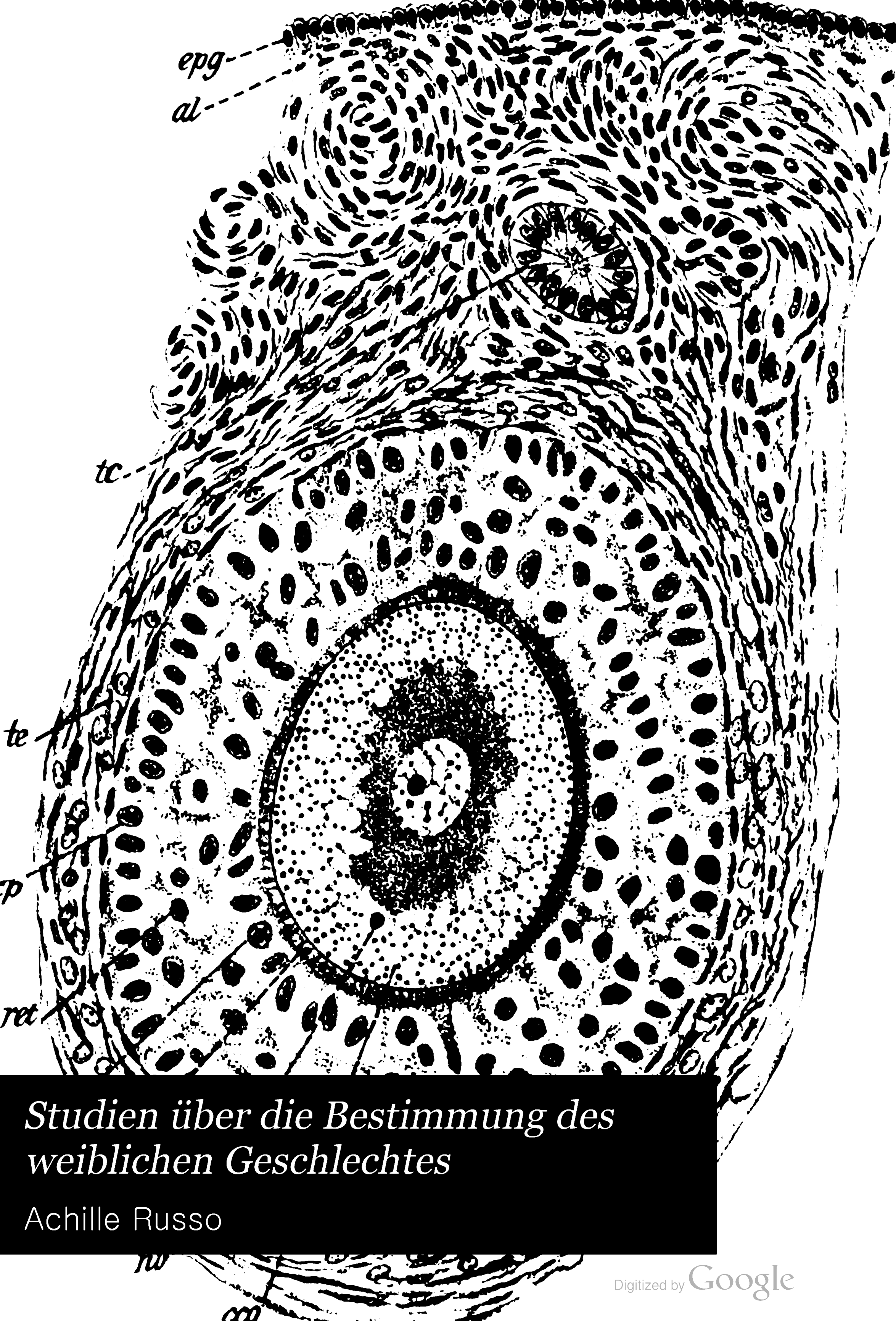
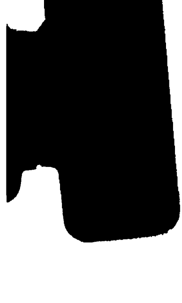


Studien über die Bestimmung des weiblichen Geschlechtes

Achille Russo





Studien über die Bestimmung des weiblichen Geschlechtes

von

Dr. Achille Russo
ordentlicher Professor der vergleichenden Anatomie und Physiologie
an der Königlichen Universität zu Catania.

Mit 32 Figuren im Text.





Verlag von Gustav Fischer in Jena
1909.

Vorwort.

Ich habe bis jetzt einige Arbeiten veröffentlicht, die mit der Geschlechtsbestimmung nähere Beziehungen haben und nunmehr in verschiedenen Verhandlungen und Denkschriften italienischer Akademien zerstreut liegen.

In dieser deutschen Veröffentlichung setze ich, in Verbindung mit allen meinen bis heute gemachten und bereits publizierten Untersuchungen, den Auszug einiger neuen Ergebnisse auseinander, die sich auf denselben Gegenstand beziehen. Neu sind die sich auf die Degeneration der Granulosezellen, auf das Fasten und seine Bedeutung für die Entwicklung des Eies, auf den Ursprung des Mitochondrialapparates und auf die Beteiligung des letzteren an der Bildung des Deutoplasma beziehenden Resultate. Einige neue Tatsachen erläutern die geschlechtliche Differenzierung der reifen Eier. Neu hinzugekommen sind ferner auch die Methoden über die Darreichung des Lecithins, um die Technik zu erläutern und die Schwierigkeiten zu beseitigen, den einige Forscher bei Wiederholung meiner Experimente begegneten. Diese Arbeit enthält ferner Andeutungen über neue Experimente, die noch fortgesetzt und deren Befunde dem Fachmann ganz neu erscheinen werden. Auch das Verhältnis der ♂ und ♀ normal geborenen Kaninchen ist auf Grund genauerer Untersuchungen etwas modifiziert worden, denn obwohl das Prozentverhältnis der ♂ immer höher im Vergleich zu den ♀ Individuen ist, läßt es sich jedoch durch verschiedene Umstände ändern.

Von den beigegebenen Figuren sind einige neu, einige andere meinen älteren Mitteilungen entnommen worden. Sämtliche Figuren wurden in dieser Wiedergabe verkleinert. Die ganze Arbeit habe

ich in drei Abschnitte eingeteilt. Im ersten Teile behandle ich die allgemeinen Begriffe, von denen ich ausgegangen bin und fasse die Ergebnisse meiner Experimente zusammen, damit der Leser, bevor er in den analytischen Teil der Arbeit übergeht, ein allgemein übersichtliches Bild und ein klares Urteil über die Gesamtuntersuchungen hat.

Im zweiten Teil betrachte ich analytisch das Epithelialelement des Kanincheneierstockes. Dieses ist der wichtigste Teil der bis jetzt vorgenommenen Untersuchungen, weil ich hier den experimentellen Beweis erbringe, wie man künstlich den Stoffwechsel des Eierstockes modifizieren kann.

Im dritten und letzten Abschnitt der Arbeit wird eine Statistik mit gleichzeitiger Angabe der angewendeten Methoden beigegeben, um die zur Beweisführung der Modifikationen des Eierstockes angestellten und im zweiten Abschnitt besprochenen Untersuchungen auseinanderzusetzen.

Dieser Abschnitt enthält ferner eine genaue Übersicht des Inhalts der Arbeiten einiger Forscher, welche die von mir in den „Atti dell' Accademia dei Lincei" veröffentlichten Experimente wiederholten und zu scheinbar verschiedenen Resultaten gelangten.

Diese Arbeit ist keine Monographie, sondern ein Auszug der von mir bis jetzt ausgeführten Untersuchungen. Die Ergebnisse neuer Forschungen über die Frage der Sexualität, die hier nicht berücksichtigt werden konnten, werden in diesem Jahre in den „Atti dell' Accademia Givenia die Catania" erscheinen.

Es sollte mich sehr freuen, wenn diese Erstlingsarbeit in deutscher Sprache dazu beitragen wird, die Aufmerksamkeit der Gelehrten auf einen so interessanten Gegenstand zu lenken und zu weiteren Forschungen anzuregen. Es ist meine Überzeugung, daß nur durch den Austausch der Ideen mehr Licht in dieser Frage gebracht werden kann.

A. Russo.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Vorwort III

I. Allgemeiner Teil 1

Zusammenfassung und Allgemeinbetrachtungen 4

II. Analytischer Teil 19

Einleitung und Einteilung des in den folgenden Kapiteln behandelten Gegenstandes 19

Struktur und Funktion des Keimepithels in betreff seines Absorptionsvermögens 21

Anhang: Albuginea, Bindegewebsstroma, Kapillaren 33

Funktion und Struktur der Granulose. Eigentümlichkeiten über die Call-Exnerschen Körper. Liquor folliculi 36

Funktion und Struktur der Zona pellucida 50

Die chromatischen Körper des Ovoplasma, ihre experimentelle Erzeugung und Zerstörung, sowie ihre Bedeutung bei der geschlechtlichen Differenzierung der Eier 63

1. Acidophile chromatische Körper von myelinischer Struktur . . 64

2. Kristalloide Körper 66

3. Experimentelle Wiedererzeugung und Zerstörung der acidophilen Körper 68

4. Der mitochondriale Apparat und die Entstehung der acidophilen deutoplasmatischen globuliformen Körperchen 73

5. Dotterkern 77

Mikrochemische Analyse der deutoplasmatischen Stoffe, die in den vorhin behandelten Gebilden enthalten sind 80

III. Experimenteller Teil 86

Statistik der männlich und weiblich geborenen Jungen bei den normalen Kaninchen. Statistik anderer Forscher 86

Verzeichnis der geborenen Männchen und Weibchen bei lecithinierten Kaninchen 91

Methoden zur Darreichung des Lecithins und der Glyzerinphosphorsäure . 98

Injektionstechnik und Normen hinsichtlich des Behandlungsverfahrens . . 100

Winke über die mikroskopische Technik für das Studium des Eierstocks . 103



I.

Allgemeiner Teil.

Die wissenschaftlichen Untersuchungen sind in den letzten Jahren tief in die analytischen Auseinandersetzungen derjenigen Tatsachen eingedrungen, die mit der Morphologie der Geschlechtselemente innig verbunden sind. Die Kenntnisse, die einem solchen Gegenstande entspringen, trugen nicht wenig dazu bei, einige Probleme der Biologie zu fördern und denselben diejenige positive Basis zu verleihen, deren sie im Anfange entbehrten. Auch das Problem der Erblichkeit der Charaktere hat wirklich ein konkreteres Feld betreten seit Boveris klassischen Untersuchungen über das Verhalten der Chromosomen bei der ersten Spaltung des Eies von Ascaris megalocephala. Der von ihm hervorgehobene Unterschied zwischen Chromosomen, die sich unverändert in der Keimbahn übertragen, und Chromosomen, die sich in der somatischen Bahn zersetzen, hat großes Gewicht einigen Ansichten Weissmanns und anderer Biologen verliehen, obwohl diese von Beard mit Recht als reine Hypothesen angesehen wurden.

Nach diesen Studien sind sehr zahlreiche Untersuchungen über das Verhalten der Chromosomen der Geschlechtszellen, sei es während ihrer Entwicklung, sei es während und nach ihrer Vereinigung erschienen. Vom Standpunkte der erblichen Erscheinung im allgemeinen aufgefaßt, wurden nämlich die Chromosomen ins Spiel gesetzt, um die Erblichkeit des Geschlechts und die Erhaltung einiger Formenmerkmale als elementare, unzerlegbare Einheiten der Art betrachtet, zu deuten, sodaß heute einige Forscher annehmen, daß eine gewisse Beziehung zwischen dem Geschlecht und den sogenannten Mendel-

schen Merkmale besteht. Cuénot war der erste, der eine solche Möglichkeit annahm, die später von Bateson als wahrscheinlich anerkannt und von Castle auf experimentellem Wege geprüft wurde.

Indem ich von einer solchen Auseinandersetzung Abstand nehme, halte ich es für angemessen, hier im voraus zu erklären, daß meine Untersuchungen von einem anderen Standpunkte ausgehen, nämlich: dem Experiment das zu unterziehen, was im allgemeinen von den Biologen angenommen wird, welche die Chromosomen als Träger der Erblichkeitserscheinungen ansehen.

Einem psychologischen Plane folgend, der den anfänglichen Weg zu diesen Studien angibt, erkläre ich zugleich, daß ich zu demselben nicht nur durch die schon seit geraumer Zeit erworbenen und dem Bereiche der Wissenschaft gehörenden Befunde, sondern auch durch die von mir zuallererst angestellten und teilweise in meinem Laboratorium ausgeführten Untersuchungen, die gleichsam als Grundlage dienten, geleitet wurde.

Von der Tatsache ausgehend, daß in den Geschlechtselementen und vor allem in den Eiern, außer verschiedene Proteinstoffe, von denen einige Phosphor enthalten, auch die Lecithine mit einem ansehnlichen Phosphorkern angehäuft sind, habe ich zuerst versucht, ob sich letztere auf künstlichem Wege vermehren lassen und ob dadurch einige Modifikationen in den Keimen eintreten. Daß der Phosphorgehalt der Zellen auf ihre Vermehrung wirkt (Lilienfeld und Monti), daß sein Quantum während der Embryoentwicklung (Kossel und Szymkiewicz) abnimmt, daß einige Komponenten, deren einen Teil er ausmacht, wie beispielsweise das Lecithin, einen bedeutenden Einfluß auf die Beförderung der Stoffwechselerscheinungen ausübt (Danilewsky, Desgrez, Ali Zaky, Carrière und Andere) war schon lange bekannt. Jedoch wurde erst neulich durch Bertolo die Anwesenheit einer derartigen Substanz in relativ großer Menge in den Eierstöcken der Echiniden nachgewiesen, die ein sehr passendes Untersuchungsobjekt zu chemischen Analysen darstellen, zumal da ihr Gewebe großenteils aus Eiern und Nährzellen besteht.

Die Tatsachen, die ich auseinandersetzen will, werden besser beweisen, ob es künstlich gelungen ist, das Lecithin oder irgend eines

seiner Spaltungsprodukte in die Eier eindringen zu lassen. Einstweilen will ich darauf aufmerksam machen, daß ein solcher Stoff in den Kaninchen, die zu meinen Untersuchungen dienten, und höchst wahrscheinlich auch in anderen Säugetieren, normalerweise in ungleicher Menge in den Eiern eines und desselben Eierstockes enthalten ist, sodaß im Vergleich zu solchen, die reichlich damit versehen sind, andere desselben vollständig entbehren. Der Einfluß des Phosphorgehalts oder der phosphorhaltigen Verbindungen bei den ontogenetischen Vorgängen ist noch wenig bekannt. Meiner Ansicht nach ist diese Seite der Entwicklungsfrage noch nicht hinreichend gewürdigt worden, und zwar deshalb, weil die Biologen sich meist mit dem Verhalten einiger Formenbestandteile der Geschlechtszellen befaßt haben, unter denen die wichtigsten und markantesten die Chromosomen und die Centrosphären sind. Während nämlich, meiner Meinung nach, derartige Zellbestandteile einen besonderen in jedem Ei verschiedenen Chemismus aufweisen, ist letzterer mit den gegenwärtigen mikrotechnischen Hilfsmitteln weniger nachweisbar als einige figurirte Dotterelemente, die als Chromidialkörper auftreten und verschiedene Namen tragen, wie z. B. Mitochondrien, Chondriomiten, Pseudochromosomen, Chromidialnetze usw. Von diesen geformten Körpern des Eidotters konnte ich das Verhalten genau verfolgen und somit die direkte Probe ihres Wesens haben, da ich sie auf künstlichem Wege wieder erzeugen und hiemit die sichere Überzeugung gewinnen konnte, daß sie einen nicht geringen Einfluß auf die Entwicklungserscheinungen auszuüben vermögen. Damit will ich nicht behaupten, daß das Kernchromatin keine wichtige Rolle bei den Entwickelungserscheinungen und -vorgängen spielt. Mehr als in dem formellen muß derartige Rolle in dem chemischen Verhalten untersucht und geprüft werden, wie die von mir zu illustrirenden, sich auf Geschlecht und Farbe der Hybriden (Bastarde) beziehenden Tatsachen es beweisen werden, die von einem speziellen chemischen Verhalten des Eidotters abhängen. Diese Untersuchungen schließen übrigens nicht aus, daß die zwei Kerne auch Träger der erblichen Elemente sind, weil die Ergebnisse dieser Untersuchungen die Ursache der Geschlechtsbestimmung und die Pigmentation der Hybriden betreffen. Ich glaube

mich indessen berechtigt, auszusprechen, daß im Gegensatz zur Chromosomentheorie, die Merkmale der Mendelschen Hybriden in der ersten bez. dominierenden Generation, wenigstens was Pigmentierung und Färbung der Hybriden anbelangt, in keiner absoluten Beziehung mit den Chromosomen stehen, sondern daß dieselben größtenteils von einem speziellen Stoffwechsel oder Chemismus, der dem Eidotter innewohnt, abhängen; daß ferner das Geschlecht der Produkte (Jungen) von einem besonderen Stoffwechsel der Keimzellen abhängt und daß bei künstlicher Modifizirung des Chemismus und Metabolismus dieser Elemente, das Mendelsche Gesetz modifiziert wird, indem man diese oder jene Varietät sogar neuester Formation fixiert, wie es auch möglich ist, nach Belieben das Geschlecht zu bestimmen.

Zusammenfassung und Allgemeinbetrachtungen.

Indem ich den bei diesen Untersuchungen befolgten Plan zu erläutern versuche, will ich vor allem hervorheben, daß die oben erwähnten Tatsachen in innigster Beziehung mit den von mir angebrachten Modifikationen im Eierstock stehen. Dieser zeigt, nach dem von mir vorgeschlagenen Verfahren, auch dem bloßen Auge (wie man dies deutlich aus den beifolgenden, zweier gleichalterigen Kaninchen erhaltenen Photographien ersehen kann, von denen eines normal, das andere lecithiniert wurde) ein beinahe dreifaches Volumen und weit größere Graafsche Follikeln wie es gewöhnlich der Fall ist. Derartige Modifikationen sind nicht etwa, wie man es vielleicht vermuten könnte, eine Folge der durch die Behandlung der Versuchstiere hervorgerufenen Gewebsveränderung, sondern sie gehören, wie ich dieses später hervorheben will, zu den Erscheinungen der Normalernährung des Organs. Die Anhäufung der auf künstlichem Wege in die Eierstöcke gelangten Stoffe, ist eine Begleiterscheinung jener Veränderungen, die in gewissen Zellgruppen, wie beispielsweise in denen des die Eierstöcke überziehenden Keimepithels beobachtet werden. Letzteres verstärkt, bei geeigneten Bedingungen, eine seiner Funktionen und wird zu einem äußerst stark aufsaugenden (resorbierenden) Epithel, indem es sehr deutlich ein analoges Verhalten wie das Epithel der

Darmzotten während der Resorptionsperiode aufweist. Eine derartige, auch unter Normalverhältnissen stattfindende, in den zur Brunstzeit

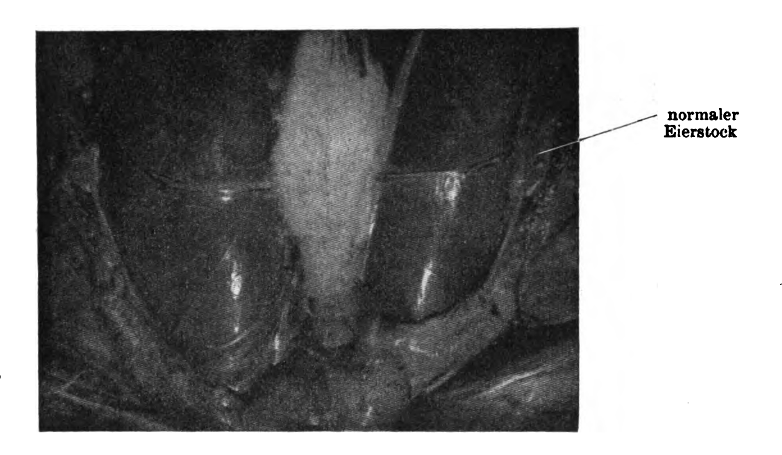


Fig. 1. Photographie des eröffneten Unterleibes eines normalen Kaninchens, bei dem die Eingeweide entfernt wurden, um die normalen Eierstöcke zu zeigen. Natürliche Größe.

untersuchten Eierstöcken sehr deutlich wahrnehmbare Funktion, in der Zeit also, daß der Organismus in seiner vollsten Üppigkeit sich befindet, wird zur Überleistung gereizt, wenn künstlicherweise dem

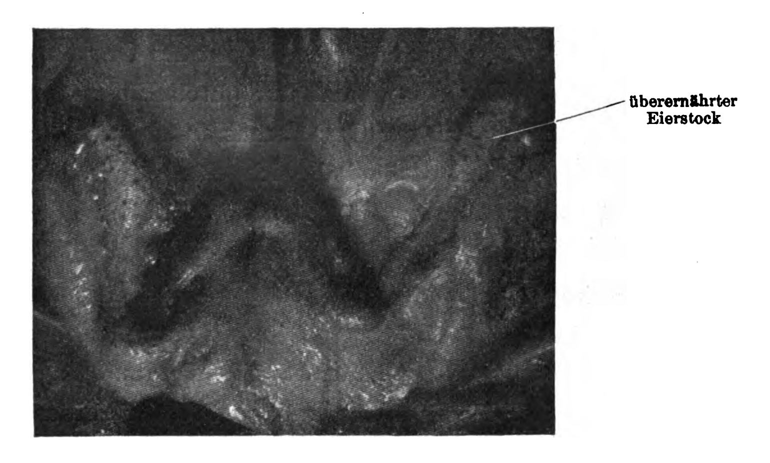


Fig. 2. Photographie eines gleichalterigen, lecithinierten Kaninchens mit bedeutend vergrößerten Eierstöcken. Natürliche Größe.

Epithel eine äußere reichlichere Umgebung von Nährmaterial verschafft wird. Der Fall tritt gerade dann ein, wenn man Lecithin

lösungen in die Peritonealhöhle einspritzt. Außer diesem direkten Wege, sind noch andere indirekte Bahnen im Organismus vorhanden, die noch besser imstande sind, die Eierstöcke mit Nährstoffen zu bereichern. In der Tat, wenn das Lecithin in die Peritonealhöhle eingespritzt wird, so wird ein Teil desselben aufgesogen und durch die Lymphgefäße des Zwergfellzentrums sowohl als durch andere Teile der Peritonealwand, wie Recklingshausen, Dogiel, Ranvier und andere ausführlich beschrieben haben, in Zirkulation gebracht. Dadurch vermag nicht nur ein Teil des eingespritzten Stoffes samt den zirkulierenden Flüssigkeiten resp. Blutbahnen zu den Eierstöcken zu gelangen, sondern wird auch eine allgemeine organisch flüssige Umgebung für alle Zellgruppen geschaffen, die gewiß ihren maßgebenden Einfluß auf die Vorgänge der Embryoentwicklung üben. Überdies gelangt das Lecithin in die Eierstocke auch bei subkutaner Einspritzung. Wenn die Kaninchen dieser Behandlungsweise unterzogen werden, bereichert sich nicht nur der Eidotter mit deutoplasmatischem Material, sondern vermag auch das in der Absorptionsphase sich befindende Keimepithel ein Teil desselben aufsagen. Das beweist, daß eine derartige Funktion des Epithels nicht bloß durch ein unmittelbares Eindringen des Lecithins in die Peritonealhöhle, sondern auch durch günstigere allgemeine Bedingungen des Organismus selbst hervorgerufen wird. Das wird nicht nur durch Einspritzung dieser Substanz, sondern auch wenn der Organismus anderweitig überernährt wird, erzielt[1]). Zu dem Zwecke habe ich eine Reihe von Experimenten gemacht, über welche ich später berichten werde; ich will jedoch einstweilen hinzufügen, daß die erwähnten Modifikationen auch dann zustande kommen, wenn das Lecithin per os gegeben wird. In diesem Falle beobachtet man nach einer derartigen 2—3 Monate dauernden Behandlung, daß im Eierstocksfollikel und im Ovocyten ein deutoplasmatisches Material sich anhäuft. Unter diesen Verhältnissen erfolgt der Stofftransport auf intestinalem Wege samt den

1) Es wäre nicht unwichtig zu untersuchen, ob das Normalverhältnis des in den roten Blutkörperchen enthaltene und im Serum gelöste Lecithin, nach Einspritzung desselben erhöht wird. Nicht weniger interessant wäre ferner die Untersuchung der Placentarbildung in den lecithinierten Versuchskaninchen.

zirkulierenden Flüssigkeiten vermöge eines natürlicheren Mittels, ohne andere physiologische Mechanismen auf indirekten Wege anzustrengen. Alles dieses beweist mit handgreiflichen Daten und Tatsachen, daß mit den gegenwärtigen Untersuchungen gewisse Funktionen zu Überleistungen gereizt werden, die normalerweise im Organismus vor sich gehen, indem sie künstlich einen markierten anabolischen Charakter annehmen.

Die gegenwärtigen Untersuchungen blieben jedoch nicht bei den ersten Befunden stehen, sondern wurden in dem Sinne fortgesetzt, daß man sich an die Wege hielt, die von den eingespritzten Stoffen bis zu ihrer Niederlage in dem Ovoplasma eingeschlagen worden waren. Schon viele bereits beobachtete Tatsachen bei anderen Tieren bewiesen mir im Voraus, daß die direkte Durchwanderung von Nährmaterial im Ovocyten möglich ist, wie dies auch schon die Untersuchungen von Mollison bei Melolontha vulgaris dartun. Bei Säugetieren bin ich ebenfalls zur Konstatierung gleicher Tatsachen gekommen, indem ich auf künstlichem Wege das Nährmaterial vermehrte. Man sah in der Tat, daß infolge der Behandlungsweise der Eidotter sich mit dem Ernährungsmaterial bereicherte, das bei seinem Durchtritt durch die Zona pellucida sich in den Maschen des Dotternetzes ansetzt und auf diese Art einen Charakter den Eiern verleiht, der nur in einigen derselben bemerkbar wird, besonders wenn letztere während der Brunstzeit untersucht werden. Im Hinblick darauf wurde ich veranlaßt, in den Normaleierstöcken zwei Sorten von Eiern zu unterscheiden, von denen einige an in der Zona pellucida und im Dotter sich abgelagerte Ernährungsmaterial reich sind, während andere entweder desselben entbehren, oder sehr wenig davon enthalten. Ein derartiger Unterschied hat bedeutenden Wert für die Gesamttatsachen, die ich hier in Kürze zusammenfassen will. Vor allem muß hervorgehoben werden, daß die künstlich überernährten, bei der mikroskopischen Kontrollbeobachtung sich reich an deutoplasmatischen Materiale von chromatischen im Eidotter und in der Zona pellucida gelagerten Körpern versehenen Eier weibliche Individuen gaben, weil die Tiere nach den gleichen Methoden behandelt und hierauf begattet, stets in überwiegender Anzahl weibliche Indivi-

duen und manchmal ausschließlich nur Weibchen gaben. Die Kaninchen, mit denen ich arbeitete sind jedoch wie leicht ersichtlich, nicht die zu diesen Studien geeignetesten Untersuchungsobjekte. Indem sie bei jedem Wurf mehrere Jungen geben und ihre Eier ungleichzeitig reifen, ist es schwer anzunehmen, daß alle Eier durch die von mir angewendete Behandlung beeinflußt werden, welche im Anfange meiner Untersuchungen ausschließlich von den Lecithininjektionen abhängig waren. Aus den statistischen, im III. Teil dieser Arbeit eingehender auseinandergesetzten Angaben ergibt es sich jedoch ausnamslos, daß das Prozent der Weibchen bei den lecithinierten Kaninchen bedeutend höher im Verhältnis zum normalen ist, wo eine dominierende Produktion von Männchen stattfindet. Ähnliche Verhältnisse ließen sich vielleicht auch dann erhalten, wenn man Lecithin oder Glyzerinphosphorsäure per os gibt, wie dies im Schlußteil dieser Arbeit näher auseinandergesetzt wird.

Andererseits wird bei Normalindividuen der Überernährungszustand der Eier nicht in allen Altersstufen beobachtet, oder falls dies vorkommt, ist es nur auf einen Teil derselben beschränkt. Es ergibt sich tatsächlich aus zahlreichen Beobachtungen am Eierstock von in verschiedenen Alter geopferten Kaninchen, daß die Allgemeinernährung dieses Organs bei Jungen von 5—6 Monaten unbedeutend ist, wie dies die Eier mit kleinem Dotter beweisen, der aller Chromidialkörperchen entbehrt und nur noch eine klare Zona pellucida besitzt. Wie später auseinandergesetzt sein wird, ist das ein Zeichen mangelhafter Ernährung. Diese Angaben mit dem zusammen verglichen, was man in bezug auf die succesiven im Allgemeinen proterandrischen Hermaphroditen kennt, beweisen, daß die Eier bis zu jenem Zeitpunkte männlich sind und im Falle, daß sie befruchtet werden könnten, sie Männchen geben würden, wie ja häufig bei Erstgeburten der Fall vorkommt. Mit zunehmendem Alter wird jedoch die Ernährung der Eierstöcke immer bedeutender, so daß sich in diesem Falle einige Eier mit embryoplastischen Stoffen bereichern, indem sich weibchengebende Eier ausbilden, wie die mikroskopische Beobachtung der zur Brunstzeit herausgenommenen Eierstöcke beweist, in der einige Eier den Dotter und die Zona pellucida reichlich

mit chromatischen Körpern versehen zeigen, während andere ganz frei davon sind. Es wird ferner von der auf statistischen Angaben fußende Promiskuität der Produkte oder Jungen bewiesen, bei welcher das Verhältnis zwischen beiden Geschlechtern beinahe gleich ist oder manchmal eine ansehnliche Prävalenz männlicher Individuen zeigt. Diese Promiskuität der zwei Geschlechter bei jenen an jeder Geburt mehrere Jungen gebenden Säugetieren könnte nur durch die Annahme erklärt werden, daß es zwei Sorten von Eiern gibt, wie dies zum ersten Mal meine Studien beweisen. Bei der Untersuchung der Produkte bei den einzelnen Geburten kommt es auch vor, daß dieselben von wenigen Ausnahmen abgesehen, entweder aus lauter Männchen oder aus lauter Weibchen bestehen, ein Beweis, daß auch normalerweise die äußersten Bedingungen im mütterlichen Metabolismus und in den Eierstöcken sich verwirklichen können.

In bezug auf die Auffassung, daß das Zustandekommen weiblicher Elemente an die Gegenwart einiger von bestimmten Zellgruppen gelieferten Nahrungs- oder Ernährungsstoffe gebunden ist, so kann die Entwicklung der hermaphroditen Drüse bei vielen Tieren, darunter die neulich von Ancel bei Helix pomatia untersuchte zu Hilfe gezogen werden. Die anfangs undifferenzierten Gonadenzellen dieses Gasteropoden bilden sich späterhin in drei verschiedene Typen aus. Die ersten sich differenzierenden Geschlechtszellen sind männlich, während einige der später erscheinenden Zellen Reservestoffe in ihrem Cytoplasma anhäufen und dadurch Nährzellen werden, indem sie das Wachstum großer Elemente, nämlich der Eier ermöglichen, die ihrerseits durch ein reichliches Protoplasma charakterisiert sind. Nach Ancels Ansicht, die übrigens mit sehr vielen diesbezüglichen Tatsachen übereinstimmt, sind die spezifischen Ernährungsbedingungen der Gonaden die Ursache der verschiedenen Entwicklung der zwei Sorten der Sexualelemente und daß die Entwicklung der Eier durch die von den sog. Nährzellen bereiteten Nährstoffen bestimmt wird.

Über den Hermaphroditismus und die Anwesenheit in den Gonaden besonders gearteter Nährzellen ist viel zu berichten. Will man indessen auf dem Gebiete der vorliegenden Untersuchungen verbleiben, so will ich nur bemerken, daß die oben erwähnten Nähr-

stoffe keine stabilen Verbindungen darstellen, sobald sie sich im Ovoplasma aufgelagert haben. Sofern die Beobachtungsmittel es gestatten, sind dieselben in den verschiedenen Funktionsmomenten sowohl quali- als quantitativ veränderlich. Deswegen ist der Eierstock, wie ich dies zuerst beim Kaninchen zur Evidenz gezeigt habe und wie mein Assistent Dr. Comes bei vielen anderen Säugetieren nachgewiesen hat, um mich so auszudrücken, ein im höchsten Grade plastisches und veränderliches Organ. Eine derartige Plastizität kann, wie bemerkt, eine normale sein: die verschiedenen Momente können nämlich genau beobachtet werden, wenn die Eierstöcke in den verschiedenen Lebensperioden des Individuums untersucht werden. Dieses kann auch experimentell gezeigt werden, wenn man besondere Kunstgriffe anwendet. Im Hinblick auf solche Tatbefunde, die eine hohe Wichtigkeit für diese Studien haben, kann man annehmen, daß das Austragen, bezw. die Trächtigkeit und das Fasten die Reservestoffe des Eies verarmen, die sich vordem angesammelt hatten und die bei einigen bestimmten Eiern zur Beobachtung gelangen, wenn der Stoffwechsel derselben ein aktiverer ist, also zur Brunstzeit. Das von mir vorgeschlagene Behandlungsverfahren, bei welchem ja die Lecithine den Hauptanteil nehmen, bereichert dagegen sämtliche Eier mit den erwähnten Stoffen und zugleich auch das Blut, indem dasselbe allen Zellgruppen einen ausgeprägten anabolischen Charakter verleiht.

Bis jetzt habe ich mich, um die Ursache des weiblichen Geschlechts zu erklären, nur damit beschäftigt, die speziellen Bedingungen der Eierstöcke und ihrer Eier zu untersuchen, die zur Reife gelangen. Ich habe mir aber zugleich die Frage gestellt, über den Anteil der männlichen Elemente bei der Bildung der Jungen ins Klare zu kommen. Trotz der Beobachtungen von Mc Clung und Sutton, die den Spermaten einiger Insektenarten einen dominierenden Einfluß bei der Geschlechtsbestimmung zuschreiben und zwar im Hinblick darauf, daß einige derselben einen Chromosomen mehr enthalten (akzessorischer oder heterotropischer Chromosom) und welcher die bestimmende Ursache des männlichen Geschlechtes sein sollte, so ergibt es sich dennoch aus meinen diesbezüglichen Beobachtungen und Untersuchungen, daß das männliche Element keine antagonistische Wirkung auf das

weibliche ausübt, sondern daß dieselbe eher eine günstige ist[1]). Indem ich meinerseits anerkenne, daß das Spermium nach Boveris Meinung ein propulsatorisches Element ist, das im Ei die Entwicklung der ontogenetischen Vorgänge bestimmt, füge ich noch bei, daß es, bei der Annahme einer gleichen Herkunft mit den Eiern, die gleichen Stoffe mit sich bringt, mit denen diese versehen sind, und somit kann es die Entwicklung des Prozesses begünstigen, der zur Bestimmung eines gewissen Geschlechtes führt. Eine derartige Anschauungsweise wird nunmehr von Experimenten bestätigt, die zu diesem Zwecke von mir ausgeführt wurden. In der Tat wurden bei den Begattungen männliche Kaninchen verschiedenen Alters, verschiedener Körperbeschaffenheit und verschiedener Rassen verwendet und zwar immer mit dem Ergebnis, daß sie (möge das Individuum des anderen Geschlechtes sein was es will, vorausgesetzt, daß es dem von mir vorgeschlagenen Behandlungsverfahren ausgesetzt worden war) keinen entscheidenden Einfluß ausübten. Die Produkte bezw. Jungen waren stets solche, wie man sie voraussichtlich erwartet hatte. Die auffällige Tatsache aber, wodurch ich annehme, daß das Spermium eine günstige und keine antagonistische Wirkung bei der Geschlechtsbestimmung ausübt, besteht darin, daß die Erzeugung von Weibchen beständiger und reichlicher ausfiel, wenn die Männchen vor der Begattung dem gleichen Behandlungsverfahren wie die Weibchen unterzogen wurden.

Schon seit geraumer Zeit ist es bekannt, daß das Geschlecht in vielen Fällen im Ei vorherbestimmt ist, wie dies bei den Eiern von Dinophilus nachgewiesen ist, bei dem die großen Eier Weibchen, während die kleinen nur Männchen hervorbringen, oder wie bei den Eiern des Seidenwurmes, laut einer Statistik von Brocadello, oder

1) Hinsichtlich der Bedeutung des sog. akzessorischen Chromosomen bei der Geschlechtserzeugung, sind die diesbezüglichen Untersuchungsergebnisse keineswegs übereinstimmend. Im Gegensatz zur Theorie von Sutton und Mc Clung, könnte man die Untersuchungen von Montgomery und Gross anführen, welche keinen Dimorphismus der Spermaten annehmen oder einen solchen nur in dem Sinne erklären, daß von den zwei Sorten von Spermaten nur diejenige funktioniert, die mit akzessorischen Chromosomen versehen ist, während die übrigen anderen nach Art der Polarbläschen entarten sollen. Andererseits gibt Wilson die zwei Spermatensorten zu, meint indessen, im Gegensatz zu Suttons und Mc Clungs Annahmen, daß jenes Spermium, das einen Chromosomen mehr besitzt die Entwickelung von Weibchen bestimmt.



die Fälle von Polyembryonie der Hymenopteren (nach Marchal, Giard und Silvestri) bei denen die Embryosäcke meistenteils Embryonen gleichen Geschlechts enthalten, oder gar die monochorialen Zwillinge des Menschen und die Kleinen von Tatusia nach Cuénots Beobachtungen, die ebenfalls gleichen Geschlechtes sind, weil sie vom gleichen Ei bezw. von der gleichen Eibildung herstammen. Diese Tatsachen aber, daß nämlich das Geschlecht ausschließlich im Ei enthalten ist, entkräftigen keineswegs die Ergebnisse meiner Experimente über die begünstigende Wirkung des Spermiums. Meine Ergebnisse werden auch von den Statistiken bestätigt, die für das menschliche Geschlecht in den Jahren von Hungersnot gemacht wurden und die im Falle mangelhafter Nahrung der beiden Eltern das Prozent des männlichen Geschlechtes vermehrt, welches deswegen auch das „Hungergeschlecht" genannt wurde. Auch bei Schafen nimmt ein solches Prozent zu, wenn die Weiden sehr dürftig sind, wie das diejenigen wohl wissen, die sich mit solcher Zucht beschäftigen. Unabhängig davon wird meine Auffassung durch die Gegenwart von Nährzellen sei es im Hoden, sei es im Eierstock bestätigt, wie man dieses deutlicher in den Gonaden der Echiniden nachsehen kann. Eben dieselben Befunde waren in den Eierstöcken anzutreffen. Man kann sie auch in den Hoden beobachten, wie ich es später mitzuteilen gedenke. Es ist indessen schon jetzt möglich vorauszusagen, daß eben dieselben in der Spermiumkonstitution einen analogen Nährwert, wie die der Eier, besitzen (Mitochondrialapparat). Die Analyse des Nährapparates des Eies sowohl als des Spermiums schließt nicht aus, wie ich ausdrücklich betone, daß die Kerne beider Gameten einen wichtigen Anteil in den von mir studierten Prozessen nehmen können.

Die Größe der Eier ist, meiner Ansicht nach und wie dies auch neulich Rich. Hertwig erkannte, nicht immer ein beständiges und sicheres Zeichen, während die spezifischen sich den Eiern anhäufenden Materialien, denen bis jetzt noch keine große Aufmerksamkeit geschenkt wurde, die wahre Erklärung der Erscheinung abgeben können. Die neuen höchst wichtigen Studien Rich. Hertwigs über die Abhängigkeit des Geschlechtes von dem verschiedenen Reifegrade der Eier, könnten vielleicht mit meinen Untersuchungsergebnissen über-

einstimmen. Man sollte indessen auch noch tiefer ergründen, worin eigentlich der verschiedene Zustand der Eier besteht. Es könnte der Fall sein, daß die verschiedene Menge von deutoplasmatischem Material, welches von mir experimentell erzeugt wurde, einen derartigen Zustand des Eies bedingt, um die plasmatischen Verhältnisse des Kernes zu modifizieren.

Auch Wilson in seiner neuen Arbeit über die Chromosomen der Geschlechtszellen der Hemipteren bestätigt auf indirektem Wege die Ergebnisse meiner Untersuchungen, indem er zugibt, daß die gleiche Art der Aktivität, die ein Männchen erzeugt, erzeugt dagegen ein Weibchen wenn sie intensiviziert wird. So weist dieser Forscher auf die Menge des in der ersten Embryonalzelle dominierenden Chromatins, das nur Weibchen, in den von ihm illustrierten Fällen, erzeugen wird. Wilson hatte, meiner Ansicht nach, einen glücklichen Gedanken, als er behauptete, daß ein Faktor der Geschlechtserzeugung in einem quantitativen Unterschied des Chromatins bestehen kann und daß der Kern, wiewohl man wenig über die Natur und intime Funktion der Chromosomen weiß, als Mittelpunkt der konstruktiven Prozesse des Stoffwechsels anzusehen ist. Deswegen fügt Wilson noch die beiläufige Bemerkung hinzu, daß die bei den Hemipteren beobachteten Tatsachen eine konkrete Basis für die anabolische sich im Kern der ersten Embryonalzellen entwickelte, Aktivität abgeben, die ein Weibchen mit Hilfe des heterotropen Chromosomen und somit vermittelst Zunahme und Vermehrung der chromatischen Substanz erzeugen soll. Wilson selbst gibt zu, daß eine solche Anschauungsweise mit der nunmehr bekannten Theorie von Geddes und Thomson sich gut vereinbart, die annehmen, daß das weibliche Geschlecht einem dominierenden Zellanabolismus und das männliche Geschlecht einem Zellkatabolismus ihre Entstehung verdanken.

Nach den Ergebnissen meiner diesbezüglichen Studien und Untersuchungen zu schließen, müssen derartige Prozesse bei der Geschlechtserzeugung vorwiegend auch auf den Eidotter ausgedehnt werden, wo die metabolischen Produkte erkennbar sind.

Es bleibt nunmehr nachzusehen, was für Wirkung die in den Eiern angebrachten Modifikationen bei der Erzeugung von Hybriden

ausüben und in welchem Verhältnisse diese zu dem Geschlecht stehen.

Diese Seite des Entwickelungsproblems bietet nicht wenige Schwierigkeiten dar, die nur wohl geplante, ausgedehnte, mehrere Jahre in Anspruch nehmende Versuche eliminieren können. Notgedrungen mußte ich aus diesem Grunde meine Untersuchungen auf die erste Generation der Kreuzungen beschränken, die ich mit selektionierten und nicht selektionierten Varietäten ausführte, indem ich mir vornahm, einige besondere Merkmale der Weibchen zu fixieren. Wiewohl diese Seite meiner Untersuchungen noch in ihrem Anfange sich befindet, so ermutigen mich dennoch einige meiner Versuchsergebnisse, dieselben näher ins Auge zu fassen. Diejenigen, die sich zu dem Zwecke mit einem so wichtigen Gegenstande beschäftigt haben, könnten vielleicht bei diesen Ergebnissen eine Erklärung für gewisse scheinbare Anomalien in den Erzeugnissen der Kreuzungen finden.

Das Merkmal, das ich mir vorgenommen hatte zu behalten, war die Haarfarbe, die nach der Auffassung, über die erblichen Merkmale und nach Cuénots Erfahrungen bei Mäusen, als Charaktereinheit, d. h. als unzersetzlich betrachtet wird. Zu diesem Zweck wählte ich weibliche Kaninchen neuerhaltener, wegen ihrer Fellfarbe charakteristischen Rassen, wie Albina, Imalaia, Olandese, Angora, Nera, die ich mit Männchen verschiedener und phylogenetisch älterer Rasse wie Grigia und Nera gekreuzt habe. Bei der Kreuzung eines Männchens der beiden letztgenannten Rassen mit einem Weibchen von Albina-, Imalaia- oder Olandeserasse folgen im Normalzustande die Jungen oder Produkte meistenteils dem Gesetz der Prävalenz von Mendel (Pisumtypus), da alle entweder grau oder schwarz waren. Wenn man aber dieselben Weibchen dem für die künstliche Bestimmung des Geschlechts vorgenommenen Behandlungsverfahren unterzieht, so zeigen die Jungen, gegen das Gesetz der Prävalenz, die Merkmale der Mutter, d. h. es gibt in der ersten Generation Hybride neuerhaltener Rasse. Man erhielt jedoch positive Ergebnisse und zwar nicht mit grauen, sondern mit schwarzen oder weißen oder mit silberweißen Männchen, die aber alle älter als die lecithinierten Weibchen waren und von denen man ihre Merkmale reproduzieren wollte.

Ich will hier betonen, daß derartige Merkmale nur die Haarfarbe betreffen und noch daran erinnern, daß man mitunter von einer Normalkreuzung einige Jungen mit den Merkmalen der neuesten Rasse erhält. In diesem Falle würde es sich hier um das Vorkommen Mendelscher Rückschlagsbastarde bezw. -hybriden handeln. Indessen habe ich mich bemüht, bei den von mir untersuchten Kreuzungen festzustellen, daß eine derartige Mendelsche Erscheinung vollständig auszuschließen war. Ich ging hierauf auf die Behandlung der Weibchen neuester Rasse über, die ich mit den gleichen zuerst zu diesem Zwecke verwendeten Männchen kreuzte. Auch in diesem Falle, jedoch nicht immer, zeigen sämtliche Jungen die Varietätsmerkmale neuester Bildung. Einige derselben bewahren indessen die väterlichen, atavistischen Merkmale. Eine solche scheinbare Ausnahme, im Gegensatz zur Ansicht der meisten Forscher, wie Sutton, der diese Ergebnisse einer verschiedentlichen Gruppierung der mütterlichen und väterlichen Chromosomen zuschreibt, steht mit dem oben von mir Angeführten im Einklang, daß nämlich das Behandlungsverfahren, dem die Kaninchen unterzogen wurden, nicht immer vermag, alle Eier zu modifizieren, die in beträchtlicher Anzahl — 12–14 —, zu verschiedenen und sukzessiven Zeitperioden reifen. In diesem Falle ist es klar, daß die vom Behandlungsverfahren nicht beeinflußten Eier, Individuen mit dominierenden Merkmalen hervorbringen werden. Ein bedeutendes Ergebnis, das, meiner Meinung nach, die Ansicht bestätigt, daß der Chemismus der Eier durch Anhäufung jener Stoffe, die normalerweise in einigen derselben vorkommen, künstlich modifiziert wird und die Ursache der Prävalenz einiger neuesten Rassen ist, bildet der Umstand, daß manchmal Jungen anzutreffen sind, die einige Merkmale der zwei gekreuzten Rassen aufweisen. In der Tat, wenn ein lecithiniertes Imalaiaweibchen mit einem männlichen Normal-Nero gekreuzt wird (vgl. Fig. 27), so sind die Jungen meistens alle Imalaia. Indessen haben einige mitunter schwarze Beine auf gelblichem Grunde oder eine schwach schwärzliche statt der charakteristischen weißen Farbe der Imalaiarasse. Das Nichterscheinen der reinen Merkmale im Mendelschen Sinne, das zur Bildung der Halbrassen führt, wie De Vries meint, könnte nicht mit der

verschiedenen Gruppierung der Chromosomen erklärt werden, während durch die Annahme leicht erklärlich ist, daß bei solchen Kreuzungen die Dottermodifikationen nicht den nötigen Grad erreicht haben, um dem Embryo den gleichen Charakter des mütterlichen Metabolismus und mithin seine charakteristischen Eigenschaften aufzudrücken. Daß im übrigen der verschiedene Metabolismus der Eier die Produkte beeinflussen und zu Ergebnissen führen kann, die unabhängig vom Mendelschen Prävalenzgesetz sind, wird durch die Kreuzung von Normalindividuen bewiesen, bei denen, wie bereits oben erwähnt, einige Produkte der ersten Generation mit denen der neuesten Rasse ähnlich sind. Diese von Woods bestätigte Tatsache konnte auch von mir bei Kaninchen kontrolliert werden. Inbetreff des Metabolismus, ist es hervorzuheben, daß die jüngsten durch Anwendung des oben erwähnten Behandlungsverfahren künstlich fixierten Varietäten nicht nur einige somatische Merkmale, wie z. B. die Haarfarbe, sondern meistenteils auch das Geschlecht selbst beibehält. Wenn das Behandlungsverfahren bei den Kaninchen in genügendem Maße vorgenommen wird, so daß keine Störung aus Übermaß entsteht, dann sind die Ergebnisse wirklich überraschend, wie dies aus den beiliegenden Photographien ersichtlich ist. Letztere zeigen, daß mitunter einige Jungen die dominierenden Merkmale bewahren. In diesem Falle ist auch das Geschlecht eine Begleiterscheinung eines derartigen Merkmals. Wegen dieser Ausnahme gilt der oben ausgesprochene Grund, daß nämlich nicht sämtliche Eier vom Behandlungsverfahren beeinflußt werden.

Diese Untersuchungen haben die Erblichkeitsfrage in bedeutend vereinfachter Form auf eine experimentelle neue Bahn gelenkt. Gerade dieses ist, meiner Meinung nach, der Hauptpunkt dieser Studien. Ich verhehle es aber nicht, daß viele Punkte dieser äußerst wichtigen wissenschaftlichen Arbeit unerklärt bleiben und daß weitere Untersuchungen notwendig sind, um Licht unter so vielen oft widersprechenden Theorien zu bringen. Auf Grund der die hier dargestellten Tatsachen, möge es jedoch noch erlaubt sein zu fragen: ob das Kernchromatin allein die materielle Basis der Erblichkeitserscheinungen nach der noch heute vorherrschenden Meinung anzu-

sehen ist. Obwohl viele Tatsachen, die während der Reifung und Befruchtung der Gameten beobachtet werden, eine derartige Hypothese zu bestätigen scheinen, so bedingt dies alles jedoch noch keine Gewißheit experimenteller Ordnung! Die von mir gemachten und summarisch angeführten Experimente, die mich zu schätzenswerten Ergebnissen, sei es in chemischer, als in morphologischer Hinsicht geführt haben, gewähren dagegen dem Eiprotoplasma und den in demselben angesammelten Stoffen eine bedeutende Rolle, sei es bei der Bestimmung des Geschlechtes, sei es bei der Erblichkeit von gewissen Charakteren. In dieser Hinsicht stimmen die Ergebnisse zum Teil mit den Anschauungen von Driesch und seinen an Echiniden erhaltenen Hybridationsresultaten überein, und zwar trotz der zu absoluten Gegenbeweise Boveris, die danach streben, eine Hauptrolle bei der Erblichkeit einiger Merkmale der Hybridenlarven, wie die Farbe, die Zahl der Mesenchimzellen, die Form der Blastulazellen, dem Cytoplasma und nicht dem Kern des Spermatozoids zuzuschreiben. Auch Godlewski erhielt aus der Befruchtung kernloser Eierbruchstücke von Echinus mit Spermatozoiden von Antedon Hybridenlarven mit rein mütterlichen Charakteren.

Literatur.

Ancel, P., Sur les premières différentiations cellulaires dans la glande hermaphrodite d'Helix pomatia. Bibliographie anatomique. 1901.

Ders., Histogenèse et structure de la glande hermaphrodite d'Helix pomatia. Archives de Biologie. 1902.

Axenfeld, Intorno alle cause che influiscono sulla produzione dei sessi nelle specie animali. Annali Accad. Med. Perugia. 1898.

Bateson et Sounders, Reports to the Evolution Commitee I. Experimental Studies on the Physiology of Heredity. London. 1901.

Beard, S., The Determination of Sex in Animal Developpement. Editor G. Fischer, Jena. 1902.

Ders., Heredity and the Cause of Variation. Biol. Centralblatt 1904.

Bertolo, P., Ricerche chimiche sopra le uova del Riccio di Mare (Strongylocentrotus lividus). Bollettino Acad. Gioenia di Scienze naturali. Catania. 1903.

Boveri, Th., Über Differenzierung der Zellkerne während der Furchung des Eies von Ascaris megalocephala. Anat. Anz. 1887.

Ders., Zellenstudien. Jenaische Zeitschrift. 1888.

Ders., Befruchtung. 1891.

Ders., Das Problem der Befruchtung. G. Fischer, Jena 1902.

Boveri, Th., Über den Einfluß der Samenzelle auf die Larvencharaktere der Echiniden. Arch. Entw.-Mechan. 1903.

Brocadello, A., Del sesso nei doppioni. Boll. mensile di Bachicultura. Padova. 1895.

Ders., Il sesso nelle uova. Ibidem. 1896.

Carrière, G., Influence de la lécithine sur les échanges nutritifs. Comptes rendus de l'Acad. des Sciences. Paris. 1901.

Castle, W. E., The Heredity of Sex. Bull. Mus. Com. Zool. Haward College. 1903.

Comes, S., Ricerche sperimentali sulle modificazioni morfologiche e chimiche della zona pellucida e degl' inclusi dell' uovo dei Mammiferi. Archivio Zoologico. Napoli 1906.

Cuénot, L., Sur la determination du séxe chez les animaux. Bulletin scientifique de la France et de la Belgique. Paris. 1899.

Ders., L'óvaire du tatou et l'origine des umeaux. Compte rendu de la Société de Biologie. Paris. 1903.

Ders., L'érédité de la pigmentation chez les souris. Arch. zool. experiment. (Notes et Revue.) 1903.

Danilewsky, B., De l'influence de la lécithine sur la croissance et la multiplication des organismes. Comptes rendus de l'Acad. des Sciences. Paris. 1895.

Driesch, H., Über rein mütterliche Charaktere an Bastardlarven von Echiniden. Arch. Entwick.-Mechanik. 1898.

Ders., Über Seeigelbastarde. Ibidem. 1903.

Desgrez, A. et Ali Zaki, De l'influence des Lécithines sur les échanges nutritifs. Comptes rendus Soc. Biol. Paris. 1900.

De Vries, H., Die Mutationstheorie. Leipzig. 1901 u. 1903.

Geddes et Thomson, Evolution of Sex.

Giard, A., Sur le développement de Lithomastix truncatellus. Bull. Société Entomol. de France. 1898.

Goldlewsky, E., Untersuchungen über die Bastardierung der Echiniden- und Crinoiden-familie. Arch. Entw.-Mechan. 1906.

Groos, J., Die Spermatogenese von Syromastes marginatus. Zool. Jahrb., Anat. u. Ontogenie. 1904.

Hertwig, Richard, Über Korrelation von Kern- und Zellgröße und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle. Biol. Centralbl. 1903.

Ders., Über das Problem der sexuellen Differenzierung. Verh. der deutsch. Zool. Ges. 1905.

Ders., Weitere Untersuchungen über das Sexualitätsproblem. Ibidem. 1906.

Kossel, A., Zur Chemie des Zellkernes. Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. VII. 1871.

Mac Clung, C. E., The accessory Chromosom-Sex-determinant? Biol. Bull. 1902.

Marchal, P., Comparaison entre les Hymenoptères parasites à développement polyembryonaire et ceux à développement monoembryonaire. Compts. rends. Soc. Biol. Paris. 1899.

Mollison, Th., Die ernährende Tätigkeit des Follikelepithels im Ovarium von Melolontha vulgaris. Zeitschr. f. wissensch. Zoologie. Leipzig. 1904.

Montgomery, T. H., A Studie of the Chromosomes of the Germ-cells of Metazoa. Americ. Philosoph. Soc. 1901.

Pearson, K., The law of ancestral Heredity. Biometrica. 1903.

Recklinghausen, Das Lymphgefäßsystem. Strickers Handb. Wien. 1871.

Rosmer, J., Sur la genèse de la grossesse gemellaire monochoriale. Bull. Acad. Sciences Cracovie. 1901.

Russo, Achille e Polara, Sulla secrezione interna delle cellule peritoneali della Gonade del Phyllophorus urna Grube. Anatomischer Anzeiger. 1905.

Russo, A., Modificazioni sperimentali dell' elemento epiteliale dell' ovaia dei Mammiferi. Atti Regia Acad. dei Lincei. Roma. 1907.

Silvestri, Contribuzione alla conoscenza biologica degli Imenotteri parassiti. Annali R. Scuola di Agricoltura. Portici. 1906.

Sutton, W. S., On the Morphology of the Chromosome-Group in Brachystola magna. Biol. Bull. 1902.

Ders., The Chromosome in Heredity. Ibidem. 1903.

Schweigger-Seidel und Dogiel, Über die Peritonealhöhle bei Fröschen und ihr Zusammenhang mit dem Lymphgefäßsystem. Arbeiten aus dem physiol. Laboratorium. Leipzig. 1867.

Wilson, E. B., The Behavior of the Idiochromosomes in Hemiptera. Journal exp. Zool. 1905.

Ders., The sexual Differences of the Chromosome-Groups in Hemiptera. Ibidem. 1906.

Woods. J. A., Mendels Law and some records in Rabbit breeding. Biometrica. 1903.

II.

Analytischer Teil.

Einleitung und Einteilung des in den folgenden Kapiteln behandelten Gegenstandes.

Aus den Gesamtuntersuchungen, die in den nachfolgenden Kapiteln auseinandergesetzt werden sollen, wird man vor allem ersehen, daß viele sich auf Eierstocksstruktur beziehenden Tatsachen, die vielfach angenommen worden waren, ohne den Nachweis durch direkte Proben liefern zu können, durch diese Untersuchungen bestätigt oder ergänzt werden. Letztere lassen genauer und richtiger einsehen, daß das Experiment von kostbarer Beihilfe bei morphologischen Untersuchungen sein kann.

In der Tat, wenn man einige Funktionen des Eierstockes mit Methoden, welche genauer am Ende des III. Teils auseinandergesetzt werden sollen, übertreibt bzw. zu Überleistungen zwingt, so kann man besser den reellen Wert einiger Elemente bestimmen, ihr verschiedenes Verhalten richtiger erklären und die im Eierstock während des Lebens des Individuums aufeinanderfolgenden Modifikationen auf eine gemeinsame Quelle zurückführen. Diese Verhältnisse hängen

von der chemischen Natur der Stoffe ab, die ins Spiel gesetzt wurden und zwar in einer Reihe direkter und indirekter Proben, die besser in den folgenden Kapiteln gewürdigt werden sollen. Alles dieses läßt annehmen, daß derartige Stoffe denen ähnlich sind, die normalerweise in das spezielle metabolische Spiel der Eierstock- und Ovocytenzellen geraten.

Auf diesem, für die gegenwärtigen Untersuchungen fundamental wichtigen Punkt muß ich entschieden beharren, denn wenn auch einige in den Organismus eingeführte Stoffe sich als unwirksam, mitunter auch als schädlich sich erweisen, werden andere dagegen vom Eierstock aufgesogen und somit durch ihr Eindringen in denselben im deutoplasmatischen Material verwandelt. Nach einer Reihe von Proben, die mit verschiedenen organischen Substanzen, wie die Nucleine, das Nucleohiston usw., die ich alle anzuführen für überflüssig erachte, ausgeführt wurden, ist das Auffinden bzw. Ausfindigmachen derjenigen vom Eierstock zurückgehaltenen Stoffe der Hauptgrund der Untersuchungsergebnisse, die ich nunmehr beschreiben will.

Der Zweck dieses zweiten (II.) Teils findet weiter auch darin seinen Grund: den Beweis zu erbringen, daß der Eierstock der Säugetiere, im Gegensatz zur allgemein herrschenden Ansicht, nach welcher er, weil tief im Soma gelegen, den experimentellen Angriff gegenüber unverletzlich sei, in seiner innersten Struktur durch verschiedenartige Mittel modifiziert werden kann. Aus diesem Grunde werden die ersten Kapitel die zu diesem Zweck vorgenommene Arbeit besprechen. Deswegen werden auch alle Beweismittel zu diesem Endzweck verwendet werden, indem ich für einige nähere Details auf die Untersuchungen meines Assistenten Dr. Comes verweise, die derselbe hierbezüglich über verschiedene Ordnungen der Säugetiere als Kontrollarbeit angestellt hat.

Es wurden nun verschiedene Reihen von Experimenten angestellt, um die im Epithelelement der Eierstöcke vorkommenden Modifikationen genauer feststellen und ihre spezifisch-funktionelle Bedeutung bestimmen zu können. Alle Experimente nahmen indessen ihren Ausgangspunkt von einer eingehenderen Untersuchung der Eierstöcke normaler Tiere, deren Struktur notwendig war, genauer

durchzuprüfen, um Kontrollangaben zu haben und die gerade bei dieser Gelegenheit infolge der experimentell erhaltenen Übertreibung der Funktionen besser interpretiert werden konnte.

In der ersten Untersuchungsreihe sind deswegen die Kaninchen eingeordnet, deren Eierstöcke in verschiedenen Perioden ihres Lebens untersucht wurden, d. h. vom 2. und 3. Monat bis zur Brunstzeit, die zwischen dem 8. und 9. Monat stattfindet, ferner die größeren Kaninchen von zwei und mehr Jahren. In dieser Reihe sind noch die Kaninchen inbegriffen, bei denen die Eierstöcke während der Trächtigkeit untersucht wurden.

In der zweiten Reihe wurden die Untersuchungen besonders zu dem Zweck angestellt, um die epithelialen Elemente der Eierstöcke mittelst spezieller Kunstgriffe umzuändern. In diese Reihe ordne ich daher diejenigen Kaninchen, die einem mehr oder weniger vollständigen und verlängerten Fasten bis etwa zur völligen Erschöpfung unterzogen wurden; ferner auch die Kaninchen, die durch Lecithineinspritzungen überernährt wurden.

In den nächstfolgenden Kapiteln war es jedoch, wie man es ersehen wird, nicht immer möglich, eine entsprechend den oben erwähnten Experimenten gemachte Ausstellungsreihe zu befolgen, denn in einigen Fällen waren die deutlich klar dargelegten Strukturen nach der Hyper- beziehungsweise Denutrition der Einzeltiere deutlicher als in den Normalindividuen. In diesem Falle habe ich mich länger damit beschäftigt und daher die Experimentaluntersuchungen vorgezogen, die mir den sichersten Weg angaben, um diejenigen Strukturen zu erklären, die bei Normalindividuen Gelegenheit zu Kontroversen unter den Forschern gerade deswegen waren, weil sie der experimentellen Prüfung entbehrten.

Struktur und Funktion des Keimepithels in betreff seines Absorptionsvermögens.

Mehrere Forscher, wie Waldeyer, Mc. Leod, van Beneden, Paladino, Viniwarter und Andere, beschäftigten sich mit dem Keimepithel der Säugetiereierstöcke, indem sie an letzteren, sei es in

verschiedenen Perioden des individuellen Lebens, sei es an verschiedenen Stellen der Oberfläche, Beobachtungen anstellten. Keiner hat aber die Tragweite des verschiedenen Verhaltens gehörig gewürdigt, das einen sehr bedeutungsvollen Wert für die genauere Physiologie der Eierstöcke erlangt, besonders nachdem ich die experimentelle Richtung bei derartigen Untersuchungen zuerst eingeführt habe.

Wie allgemein bekannt, hat das Keimepithel nicht auf der gesamten Eierstocksoberfläche die gleiche Form. Während es nämlich an einigen Stellen Zellen von der Gestalt eines Zylinderepithels mit länglichem in der Richtung der Längsachse gestrecktem Kern und reichliches Protoplasma besonders da, wo es sich an das Bindegewebsstroma anheftet, aufweist, ist es hingegen an anderen Stellen abgeplattet oder blätterig. Zwischen diesen beiden äußersten Formen finden sich Übergangszellen mit rundlichem Kern und sehr spärlichem Protoplasma vor. Paladino, der sich vor anderen Forschern in die Untersuchungen dieser Frage vertieft hat, bringt dieses soeben erwähnte Verhalten mit dem Alter oder mit der Gegenwart reifer Follikel in Verbindung, die entweder in der Nähe des Epithels oder in der Entwicklung begriffen sich vorfinden. Wiewohl er des Näheren keine Beteiligung des Epithels an der Ernährung der Eierstöcke zuspricht, so hat er doch etwas Ähnliches ahnungsvoll gesehen.

Regaud und Policard in einer neulich erschienenen Arbeit, sich auf die verschiedentliche Färbbarkeit der Kerne stütztend, die bei Anwendung verschiedener Methoden der Fixierung (Telliesniczkysche Mischung) oder bei der Färbung mit saurem Methylblau und Eosin oder nach der Rablschen Methode (Hämatein und Eosin) oder nach der zuerst von Weigert angewendeten Methode für das Myelin (Kupferazetat, Färbung mit Hämatoxylin, Differenzierung in verdünnter Lösung von Borax und Kaliumeisenzyanür) erhalten wird, behaupten, daß beim Hund das Keimepithel, die Mark- und Rindenröhren der Eierstöcke eine drüsenähnliche Funktion besitzen. Während das Epithelsekret nach außen abfließt, würde das Tubensekret in das Innere des Eierstockes hineinfließen, so daß letztere als echte Drüsen mit innerer Absonderung zu betrachten wären. Derartige Befunde, die in Übereinstimmung stehen mit dem, was in den letzten

Jahren über die auf den Metabolismus ausgeübte Tätigkeit bestätigt wurde; wie es in der neu erschienenen Arbeit von Marshall berichtet wird, werden, was das Keimepithel anbelangt, durch meine Untersuchungen berichtigt.

In der Tat zeigt das Keimepithel mit seinem offenbar verschiedenen Verhalten, wie ich dies bereits in anderen Mitteilungen hervorgehoben habe, eine aufsaugende Tätigkeit, und scheint unter gewissen, bestimmten Bedingungen während der Aufsaugung sich den Darmzotten analog zu verhalten.

Ein solcher Wert des Keimepithels wurde mir durch die Experimente verschafft, durch dieselben kontrolliert und bestätigt, und zwar dadurch, daß bei übermäßiger Funktion der Eierstöcke, das verschiedene Verhalten des Keimepithels reichlicher und mithin greifbarer und schätzenswerter gemacht wird.

Auf Grund einer solchen Tatsache, habe ich verschiedene Experimente ausgeführt, die auf das deutlichste die verschiedenen Phasen zeigen, die auf derartige Vorgänge Bezug haben. Vor allem wurden zwei Experimentreihen unternommen, um den Beweis zu erbringen, daß bei Zunahme und Vermehrung der assimilierbaren Stoffe in der Peritonealhöhle auch die Absorptionsfunktion des Keimepithels zu vermehrter Tätigkeit angespornt wird. Im ersten Falle wurde direkt in die Peritonealhöhle Lecithin eingespritzt; im zweiten Falle wurde dasselbe subkutan beigebracht, um zu erfahren, ob auf eine solche Art und bei gleichzeitiger Förderung des allgemeinen Stoffwechsels, die assimilierbaren Stoffe in der Serumflüssigkeit sich vermehren würden und ob aus diesem Grunde das Keimepithel in den Resorptionsphasen sich zeigte.

1. Um dem verschiedenen Verhalten des Keimepithels in den abwechselnden Aufsaugungs- und inneren Absonderungsphasen näher zu treten, wurden 2—4 ccm Lecithin in konzentrierter Lösung in Kaninchen von 4—5 Monaten bis zu einem Jahre eingespritzt. Dieselben wurden in verschiedenen Zeiträumen geopfert. Einige derselben wurden nach 5, andere nach 7 und so nacheinander 18 bis 24 Stunden nach der Einspritzung, wieder andere wurden endlich

einen Monat später und noch länger abgeschlachtet. Im letzteren Falle wurden die Einspritzungen wiederholt und zwar 4—5 mal alle 3—4 Tage. Schon seit den ersten Beobachtungen von den Veränderungen überrascht, die das Keimepithel unter solchen Umständen erleidet, sowie auch von seiner eigentümlichen Analogie mit den Darmzotten während der Aufsaugung, habe ich, diese diesbezüglichen Ergebnisse benutzend, dabei einen vollständigen Parallelismus herausfinden können. Obwohl widersprechende Angaben über die Modifikationen der Epitheldecke der Darmzotten, sowie über ihre Beziehungen zum Bindegewebsstroma und zu den lymphoiden Elementen bestehen, wie dies aus den Arbeiten von De Luca und Bezzola hervorgeht, so steht es dennoch zweifellos fest, daß die resorbierende Zelle in ihren zwei Segmenten, nämlich im äußeren oder distalen und im inneren bezw. proximalen, sei es in bezug auf die Lage, sei es in bezug auf die Form des Kernes Veränderungen erleidet, die in Beziehung mit der Aufsaugung stehen. Ich will keine lange Auseinandersetzung über die diesbezüglichen Untersuchungen machen und verweise daher den Leser auf die zusammenfassende Arbeit von Oppel und ferner auf die Abhandlungen von Mingazzini, Monti, Arcangeli, in welchen noch der Rest der diesbezüglichen Literatur zitiert wird.

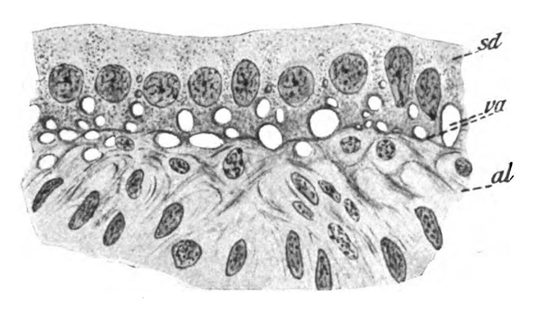


Fig. 3. Keimepithel mit Zellen in der ersten Aufsaugungsphase. Das äußere bzw. distale Protoplasma (*sd*) ist verdickt und das innere bzw. proximale (*va*) ist vakuolisiert. Der Kern ist rundlich (*al* = Albuginea) 7 Stunden nach der endoperitonealen Lecithineinspritzung. Zeiss Comp. Okul. 6. Obj. homog. Imm. $^1/_{16}$.

Wenn durch Schnitte Eierstöcke von 5—7 Stunden nach der intraperitonealen Lecithineinspritzung getöteten Kaninchen untersucht werden, so befinden sich einige Epithelzüge, wie Fig. 3 zeigt, in der ersten Resorptionsphase. Hier besitzt das Epithel ein verdicktes Protoplasma im äußeren bezw. distalen Segmente von leicht granuliertem Aussehen, hat ferner einen rundlichen Kern mit netzförmig gleichmäßig verteiltem Chromatin. Des

Ferneren besitzt das Epithel ein inneres bezw. proximales Protoplasma, das noch nicht modifiziert, d. h. wenig entwickelt und kompakt erscheint, so daß es bisweilen den Anschein hat, als würde sich der Kern auf das die Albuginea bildende Bindegewebsstroma stützen. Im inneren Segmente aber, zwischen den Zellen sind Vakuolen vorhanden, die sonst ganz fehlen und ein Zeichen der darauffolgenden Phase der sog. Assimilation oder inneren Sekretion bilden.

Derartige Vakuolen wurden als in den Epithelzellen der Darmzotten während der Aufsaugung befindliche beschrieben, jedoch nur in bereits vorgeschrittener Phase und auch von den verschiedenen Autoren verschiedentlich gedeutet. Nach der Ansicht der Einen würden die Aufsaugezellen in ihrer Basalportion sich zerstören (Grunhagen, Mingazzini), nach der Anderer Meinung jedoch (Heidenhain, Oppel) würden die aufgesogenen Stoffe durch das basale Protoplasma filtrieren, indem sich dabei interepitheliale Räume bezw. Vakuolen bilden und von wo aus die Stoffe in das Stroma übergehen würden. Während nun auf diese Art und Weise für die ersteren eine Abtrennung oder Loslösung der Epitheldecke vom Bindegewebsstroma vor sich gehen würde, wäre dieses nach der anderen Annahme nicht zutreffend und deswegen nur auf eine mangelhafte Technik zurückzuführen.

Was nun das Keimepithel anbelangt, so stimmen meine diesbezüglichen Beobachtungen mit denen der letztgenannten Forscher sowie auch anderer neuester Zeit vollständig überein. Ich habe weder die Zerstörung des Protoplasmas des inneren Segmentes noch die Bildung von Räumen beobachtet, die auf solche Vorkommnisse Bezug haben.

In den Schnitten der Eierstöcke von Kaninchen, die 5—7 Stunden nach der Einspritzung und noch besser bei denen, die längere Zeit hernach geopfert wurden, konnten Epithelzüge oder vereinzelte Zellen in einer vorgeschritteneren Phase der Aufsaugung beobachtet werden, demnach in einer Phase, bei welcher die Assimilation beginnt. An diesen Punkten sind die Zellen viel länger und dünner, so daß sie eine Höhe von 16 μ und noch mehr erreichen, während die Normalzellen durchschnittlich 4—7 μ messen. Der zuerst rundliche Kern wird dabei ellipsoidisch, und gegen das distale Segment der Zelle hin





verlegt. Zugleich ist ihr Chromatin nicht mehr in ein regelmäßiges Netz verteilt, sondern in Fäden oder Reihen von Körnern nach der größeren Achse des Kerns selbst umgestaltet. Das unmittelbar unter dem Kern befindliche Protoplasma verlängert und verdünnt sich durch die Bildung von geräumigeren Vakuolen zwischen den einzelnen Zellen und endigt mit einer Art von Ausbreitung oder Fuß, mittels welches es sich an das Bindegewebe anlehnt.

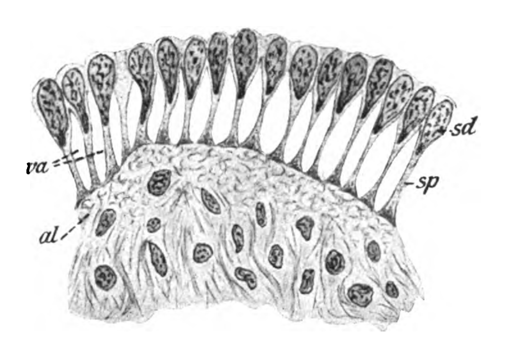


Fig. 4. Zellen in einer darauffolgenden Periode der Aufsaugung mit wenig äußerlichem, fadenförmigem (*sp*), innerem Protoplasma und Ausdehnung desselben an der Basis. Der Kern ist im äußeren Segment der Zellen verlängert mit an der Basis angehäuftem Chromatin. Die Zellen sind durch weite Vakuolenräume (*va*) voneinander getrennt. Die Albuginea (*al*) ist eben auch im Begriffe sich zu vakuolisieren. Vergrößerung wie in Fig. 3.

Die interepithelialen Vacuolen bei ihren vorgeschritteneren Phasen der Aufsaugung nehmen derart an Volumen zu, daß sie die Zellen von ihrer Innenseite lostrennen. Letztere besteht indessen, wie Fig. 4 klar darlegt, aus fadenförmigem Protoplasma, während dies an der Außenseite, d. h. in der Gegend des Kernes, spärlich vorhanden und kaum sichtbar ist. Indem die interepithelialen Vacuolen ihre flüssige Absonderung an der Zellbasis vermehren, nehmen sie das unterliegende Bindegewebsstroma ein, weswegen, wie Fig. 5 offenbart, die sogenannte Albuginea, die ein kompaktes Gewebe darstellt, in vorgeschrittener Phase sehr verdickt und vacuolisiert ist.

In einer der letzten Phasen der Aufsaugung zeigt sich der Kern an seiner unteren Portion sehr verdünnt, fast fadenähnlich, mit angesammeltem Chromatin, gleichsam einen Haufen oder Masse bildend, die keine bestimmte Struktur aufweist. Während der Kern derartige Eigentümlichkeit zeigt, treten im darunterliegenden Protoplasma rundliche, unregelmäßige Körper auf, die sich mit den Kernfarbstoffen, besonders mit Heidenhains Hämatoxylin, sehr stark färben. Derartige Chromoidalkörper, die auf fast identische oder ähnliche Art

und in gleicher Stellung in bezug auf den Kern von Rina Monti in den Epithelzellen der in Aktivität befindlichen Darmzotten gefunden wurden, liegen im Protoplasma zerstreut, mitunter auch bei einander an der Basis der Zelle, bisweilen einen ansehnlichen Haufen bildend.

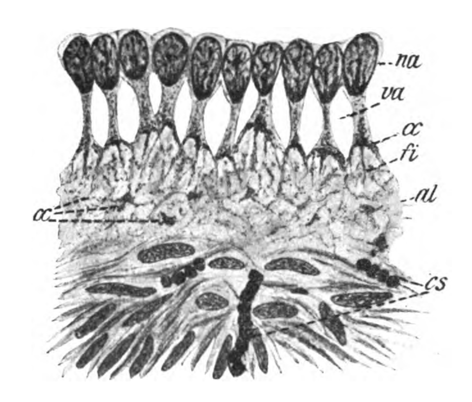


Fig. 5. Zellen in der Endphase der Aufsaugung mit innerlichem Protoplasma, das chromatische (*cc*) Körnchen enthält und besonders an der Basis angehäuft ist, von welch letzterer aus Zweige (*fi*) abgehen, die in das unterliegende Bindegewebe eindringen. Letzteres ist an der unter dem Epithel liegenden Schicht verdickt und enthält chromatische Körnchen isoliert oder in Haufen. Unter der verdickten Schicht befindet sich kompaktes Bindegewebe mit 3 Kapillaren (*cs*).

In einer fortgeschritteneren Phase, wie z. B. in Eierstöcken von 24 Stunden nach der Einspritzung getöteten Kaninchen, laufen von der Basis bezw. von dem Fuß der Zelle protoplasmatische Fortsätze, die in das Innere des unterliegenden Bindegewebes eindringen und sich mit einander verschmelzen bezw. binden. Wie Fig. 5 zeigt, befinden sich in derartigen fadenförmigen Gebilden chromophile, ähnlich den oben beschriebenen Körnchen, die in das unterliegende Bindegewebe Stroma einmünden. Dasselbe zeigt in der Tat, wie oben bereits bemerkt, außer seiner Vacuolisierung isoliert verteilte Körnchen längs der Maschen oder auch solche, die Haufen bilden und augenscheinlich von den oben befindlichen Epithelzellen herrühren. Was für eine Herkunft und physiologische Bedeutung diese Körner besitzen, ist schwierig an der Hand sicherer Tatsachen anzugeben. Es ist indessen nicht auszuschließen, daß sich der Kern an ihrer Bildung beteiligt, sei es wegen der eigentümlichen Form, die er in der Endphase der Aufsaugung annimmt, sei es auch, weil einige Kerne des Keimepithels in vorhergehenden Phasen so reich an chromatischen Stoffen sind, daß es schwer fällt, die Struktur derselben zu bestimmen.

Wie oben bemerkt, meinten Regaud und Policard, sich auf die Färbbarkeit der Kerne stützend, ohne weiteres annehmen zu

dürfen, daß das Keimepithel ein absonderndes Organ ist. Eine derartige Teilnahme des Kernes bei den sekretorischen Prozessen, außer von Heidenhain in den Speicheldrüsenzellen und von Anderen in verschiedenen übrigen Drüsen, wurde jedoch vor allem durch Galeotti und Trambusti im Kerne der Pankreasleberzellen eingehender studiert.

Aus diesen Studien geht hervor, daß spezifische Stoffe aus dem Kern heraustreten, im Cytoplasma weiter umgeändert werden, und die Sekretkörner mitunter in den Pankreaszellen die Zymogenkörnchen bilden. Es ist deswegen nicht unwahrscheinlich, daß sowohl das Keim- als das Darmepithel während der Aufsaugung durch spezifische Produkte die Umwandlung der aufgesogenen Stoffe begünstigen und fördern können.

Wiewohl die Kleinheit der von mir untersuchten Elemente schwer entscheiden lassen, welchen Anteil bei solchen Vorgängen das Nucleinnetz und das Kernenchylema nehmen, so lassen dessen ungeachtet die stärkere Färbung einiger Kerne in dem der Aufsaugung vorausgehenden Stadium, sowie ihre verdünnte Form an der Basis mit angehäuftem Chromatin, ferner die Gegenwart von Chromidialkörpern im darunter liegenden Protoplasma und die Phase selbst der stattgefundenen Aufsaugung, in der die Zelle sich befindet, auch in diesem Falle um so wahrscheinlicher erscheinen, daß der Kern einen aktiven Teil an dem Sekretionsprozesse nimmt.

Ich will schließlich noch bemerken, daß, gemäß der über die Produktion der Drüsensekrete herrschenden Auffassung, nach welcher die erste Quelle der Sekrete die Nahrungssaftflüssigkeiten sind, die gegenwärtigen Versuchen bei Vermehrung der assimilierbaren Stoffe der Peritonealflüssigkeit die strukturellen Modifikationen übertreiben, die sonst im Normalzustande stattzufinden pflegen.

Wenn ich hier zusammenfasse, was oben über die morphologischen Änderungen des Keimepithels bei reichlicherem Nährmedium auseinandergesetzt wurde, so sind, wie für das Darmepithel, die zwei folgenden wesentlichen Phasen zu unterscheiden:

1. Die Resorptionsphase, bei welcher das Protoplasma des Distalsegments der Zelle sich verdickt, während das Proximalsegment wenig deutlich ist und noch den rundlichen Kern enthält.

2. **Assimilationsphase** oder **innere Sekretion**, welche durch das Erscheinen von Vakuolen zwischen den einzelnen Zellen, durch die Verlegung des Kernes im äußeren Segment, die Verlängerung des unterliegenden Protoplasmas und das Auftreten von Chromidialkörnern charakterisiert wird.

Abgesehen von diesen zwei äußersten kommen intermediäre Phasen wie auch Zellen in sichtbarer Rückkehr zum Ruhestadium vor.

Vor dem Schluß dieses Paragraphen muß ich noch eine letzte Frage in Betracht ziehen: unter welcher Form das eingespritzte Lecithin in das Eistroma durch die Epithelzellen eindringt?

In der Peritonealhöhle findet eine vollständige Trennung des Lecithins vom Vaselinöl statt, einer indifferenten Substanz, die nur als Lösungsmittel dient. Während das Öl von den Leukocyten aufgefangen wird, wird das Lecithin von der Peritonealflüssigkeit aufgelöst[1]).

In den mikroskopisch untersuchten Schnitten zeigt sich das Keimepithel von einer homogenen, fein granulierten Substanz überzogen. Wenn dagegen das Lecithin suspendiert ist, ist es mit mehr oder weniger großen Körnern bedeckt. Im ersten Falle zeigt das Epithel die oben beschriebenen Modifikationen, im zweiten Falle hingegen, wiewohl sich Körnchen unter dem Epithel befinden, ist dasselbe wegen des unvollkommenen Durchdringens der körnigen Massen mißgestaltet.

Derartige Befunde und die Gegenwart der oben beschriebenen Vakuolen liefern den Beweis, daß das Lecithin in das Eierstockstroma am besten in flüssiger Form eindringt und zwar durch eine spezifische Tätigkeit der Epithelzellen. Dies alles steht in Einklang mit der neulich von den Physiologen behaupteten Lehre, wie von **Pflüger** und Anderen

---

1) Wenn man das in Vaselinöl suspendierte Lecithin in die Peritonealhöhle einspritzt, so bildet sich hier eine milchige Flüssigkeit. In derselben schwimmen mehr oder weniger große Öltropfen, die sich vom Öl abgesondert haben. Diese Öltropfen werden von den Leukocyten aufgenommen, welch letztere unter sich verbinden, um bedeutend größere weißliche Körper zu bilden, die zwischen den Darmschlingen sich einnisten. Wenn man derartige Körper in den mikroskopischen Schnittpräparaten untersucht, so zeigen sie sich aus platten, unter sich eingeschmolzen, zusammengesetzten Elementen bestehend. Diese letzteren begrenzen bzw. umgrenzen große mit Öl voll gefüllte Vakuolen.



in betreff der Aufsaugung einiger Fette vonseiten des Darms. Jedoch ist das Problem, das sich diese Physiologen für die Fettaufsaugung vorgesteckt hatten, von dem Verhalten verschieden, welches das Darmepithel, das die Eierstöcke bekleidet, hinsichtlich des Lecithins zeigt. In der Tat, obwohl das Lecithin eine ätherische Verbindung ist, in welcher außer der Glyzerinphosphorsäure und des Cholins zwei Moleküle von Fettsäure, wie Oleïn-, Palmitin- und Stearinsäure usw. teilnehmen, und wiewohl es daher mit den Fetten wegen seiner verseifenden Eigenschaften verwandt ist, so weiß man an der Hand sicherer Tatsachen doch nicht, ob in der Peritonealflüssigkeit eine Spaltung des Lecithins stattfindet und daher eine Verseifung wie für die Fette des Darms, mittels der lipolytischen Fermente oder Steapsine stattfindet, oder ob die Glyzerinphosphorsäure allein aufgesogen wird. Diese letztere Hypothese soll angeblich durch die Untersuchungen von Gilson bestätigt werden, der nachwies, daß schwache alkoholische Flüssigkeiten die Glyzerinphosphorsäure von dem Lecithinmolekül trennen, während die sauren Lösungen die Glyzerinphosphorsäure zersetzen und somit Phosphorsäure spalten. Genauere hierbezügliche Untersuchungen wären sehr wünschenswert!

Daß von dem in die Bauchhöhle eingespritzten Lecithin die Glyzerinphosphorsäure absorbiert wird, beweist auch der Umstand, daß bei Einspritzung von 2—5 ccm Glyzerinphosphorsäure + einer physiologischen Lösung von 1000 ccm Kochsalzlösung, dieselbe nach 7 Stunden im Keimepithel in den gleichen Absorptionsphasen sich zeigte. Dieses ist ein schlagender Beweis für die nun in Erwägung gezogene Tatsache, daß nämlich der aktivste Teil des Lecithins die glyzerinphosphorige Molekül ist. Dieser Umstand bewog mich andererseits den Versuch zu machen, eine derartige Substanz direkt beizubringen, wie dies ebenfalls später auseinandergesetzt sein wird.

2. In dieser zweiten Reihe von Versuchen wurden die Einspritzungen immer unter die Haut gemacht und an den beiden Seiten des Unterleibes, den Lumbargegenden entsprechend, vorgenommen. Es wurden dazu kleine Kaninchen von 4—6 Monaten ausgewählt, denen in Zwischenräumen von 2—3 Tagen 2—3 ccm einer konzentrierten

10 $^0/_0$ gen Lecithinlösung, also im ganzen 4—5 Einspritzungen gemacht wurden. Bei der mikroskopischen Untersuchung erwies sich die Peritonealhöhle voll von milchiger Flüssigkeit angefüllt, ähnlich derjenigen, die man gewahrt, wenn man die Einspritzungen direkt in die Peritonealhöhle vornimmt. Die Eierstöcke waren dabei ebenfalls vergrößert. Um genauer zu erfahren, ob das Lecithin direkt in die Peritonealhöhle oder in die seröse Höhle eintritt, wurden auch einige Versuche mit gefärbten Lösungen unter die Haut gemacht. Die dabei verwendeten Farbstoffe waren Indigo oder Rubin. Auf diese Weise erhielt man grünliche, beziehungsweise intensivrote Farblösungen. In beiden Fällen wurden die Farbstoffe im Peritoneum angetroffen, wenn auch nur in sehr geringem Maße. Bei der mikroskopischen Untersuchung der mit den gebräuchlichen Methoden erhaltenen Schnitte, zeigte sich das Keimepithel in den verschiedenen Phasen der oben auseinandergesetzten Aufsaugung und in allen Fällen sehr verschieden von jenem der unter den gleichen Bedingungen untersuchten Normalkaninchen bezüglich Alter und Gewicht, um Vergleichspunkte zu besitzen.

In dieser zweiten Reihe von Untersuchungen beziehungsweise Versuchsreihe hat man den augenscheinlichsten Beweis, daß, wenn man den allgemeinen Stoffwechsel des Organismus begünstigt, was gerade bei Verabreichung von Lecithin geschieht, auch die assimilierbaren Stoffe der Flüssigkeiten der serösen Höhlen sich vermehren, und daß das Keimepithel bei vermehrter Aufsaugungstätigkeit das sicherste Zeichen des besseren Wohlbefindens ist.

3. Um feststellen zu können, ob der allgemeine, vom Alter abhängige Stoffwechsel unter normalen Bedingungen auf die Eierstöcke sich wiederspiegelt, und zwar dadurch, daß das Keimepithel zu der Form und Funktion eines Resorptionsepithels angespornt wird, wurde eine dritte Reihe von Beobachtungen gemacht. Es wurden nämlich die Eierstöcke von in verschiedenen Perioden ihres Lebens getöteten Kaninchen untersucht, von solchen 4—5 Monate alten bis zu einem Jahre und darüber, und zwar vor, während und nach der Brunstzeit.

Aus den vielfach gemachten Beobachtungen ergibt es sich, daß bei den kleinen Individuen, ehe diese das Alter der Brunstzeit erreicht

haben, das Keimepithel in bezug auf seine Aufsaugungsfunktion sich indifferent verhält. Während der Brunstzeit dagegen und bei den Eierstöcken junger, im Februar getöteten Tieren zeigt das Epithel sehr scharf das verschiedene Verhalten der Aufsaugung und innerer Absonderung gerade so wie diese oben beschrieben wurden. In der Tat zeigt das Epithel sein Protoplasma im distalen Segment verdickt und mit rundlichem Kern versehen, während im proximalen Segment interepitheliale Vakuolen beginnen sich zwischen den einzelnen Zellen zu bilden. In der nächstfolgenden, eine vorgeschrittenere Phase innerer Absonderung darstellende Periode ist das Protoplasma länglich verdünnt wegen der Bildung zahlreicher interzellularer Vakuolen, der Kern ist dabei nach außen verlegt und verlängert mit angesammelten Chromatin an der Basis, ähnlich demjenigen, das ich beim mit Lecithininjektionen experimentell umgewandelten Epithel bereits beschrieben habe. Es sind überdies in dieser Phase und an der Stelle, wo das Protoplasma auf dem Bindegewebe ruht, chromoide Stoffe angesammelt, von welchen Fortsetzungen ausgehen, die bis in das Innere des unterliegenden Bindegewebsstromas reichen, wie dieses ebenfalls unter oben auseinandergesetzten experimentellen Bedingungen leicht zu sehen ist. Die Aufsaugungsphasen, wie sie oben bei Normalkaninchen zur Brunstzeit beschrieben wurden, sind nicht leicht anzutreffen, und auch nicht so wichtig wie bei den mit Lecithin eingespritzten Kaninchen. Gerade dieser Umstand erklärt, weshalb keiner der vorhergehenden Beobachter davon Erwähnung getan hat, währenddem für mich bei derartigen Untersuchungen der experimentelle Weg als vorhergehender Wegweiser diente.

4. Es wurde eine vierte Reihe von Versuchen gemacht, um zu sehen, ob bei Verarmung des Organismus an Nährstoffe durch anhaltendes Fasten verschiedener Zeitdauer das Keimepithel ebenfalls die Bedingungen des umgeänderten Stoffwechsels spüren hann. Zu diesem Behufe wurde ein junges, brünstiges Kaninchenweibchen auf halber Fastendiät gehalten. Es wurde nämlich demselben eine sehr kleine Menge der gewöhnlichen Nahrungsration verabreicht und zwar zu dem Zwecke, es möglichst lange am Leben erhalten zu können.

Zwanzig Tage später wurde das Tier getöte 'nd bei der Untersuchung der Schnitte zeigte es die Oberfläc. e der Eierstöcke mit einem atrophischen Epithel bedeckt, ferner mit Kernen versehen, die aus einer kompakten intensiv gefärbten Masse bestanden, keine besondere Struktur unterscheiden ließen und ein verarmtes, helles durchsichtigeres, um den Kern herum gelagertes Protoplasma, wie dies Fig. 6 zeigt, aufwiesen. Die Epithelmodifikationen und vor allem die Chromolysis des Kernes steht im vollsten Einklang mit dem, was über die atrophische Degeneration und den Tod der Zellen bekannt ist, wie uns dies aus den Untersuchungen von Lukyanow, Pfitzner und andere (Gemming, Arnold) hervorgeht. Aus diesem Grunde ist es anzunehmen, daß das verlängerte Fasten, bei Versetzung des Keimepithels in abnorme Bedingungen den Tod herbeiführt, was ferner auch beweist, daß das Epithel selbst ein aktives Organ ist, welches an dem allgemeinen Stoffwechsel des Organismus teilnimmt.

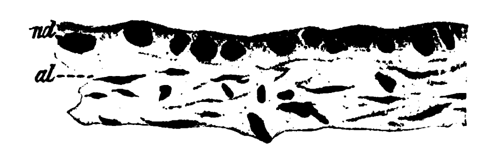


Fig. 6. Atrophisches Keimepithel eines fastenden Kaninchens, welches nach 20 Tagen getötet wurde. Zeiss Comp. Okul. 6. Obj. homog. Imm. $^1/_{16}$.

Anhang.

Albuginea, Bindegewebsstroma, Kapillaren.

Wie ich bereits oben angedeutet habe, erleidet die Bindegewebsschicht unter dem Keimepithel, die unpassend Albuginea genannt wird, Modifikationen, die zugleich mit der Resorptionsfunktion des Epithels auftreten. Eine derartige Schicht, die normalerweise kompakt ist, weil sie aus dicht, parallel oder gekreuzt verlaufenden Fasern zusammengesetzt ist und keine große Dicke besitzt, vakuolisiert sich während der Aufsaugung, indem die Fasern sich voneinander entfernen und wird daher breiter.

Die Vakuolen stehen in unmittelbarer Verbindung mit den oben beschriebenen an der Basis der Epithelzellen, so daß es anzunehmen ist, daß sie durch die Tätigkeit des Epithels gebildet werden, von

außen her eingetretene Stoffe enthalten. Außer diesen Vakuolen stehen aber in einer weit vorgeschritteneren Aufsaugungsphase, wie derartige in Schnitten der Eierstöcke von Kaninchen auftreten, die 24 Stunden und noch länger nach der Einspritzung getötet wurden, die Epithelzellen mittels protoplasmatischer Fortsetzungen an der Basis in direkter Verbindung mit dem Bindegewebsstroma, in welches einige Produkte des Zellstoffwechsels eindringen und die sich als stark gefärbte Körper und Körnchen erweisen, die längs der Maschen des Bindegewebsnetzes verteilt sind.

Welche Bestimmung diese soeben erwähnten Körper haben mögen, ist schwer anzugeben, obwohl fast mit den gleichen Charakteren versehene globuliforme Körperchen in der Theca folliculi, in der Granulose, in der Zona pellucida, im Ovoplasma sich vorfinden. Dieselben bezeugen indessen, daß das Epithel vermöge einer spezifischen Aktivität Stoffe verarbeitet, die infolge der Hyperfunktion der Aufsaugung sichtbar werden. Die flüssigen Stoffe, welche die Vakuolen bilden und die, meiner Meinung nach, die unmittelbaren Produkte der Aufsaugung sind, indem sie in großer Menge im Bindegewebsstroma sich ansammeln (besonders, wenn die Aufsaugung sehr lebhaft war) gerinnt mit den angewendeten Reagentien, hauptsächlich mit den Fixierungsmitteln und besonders mit den Sublimatstoffen. Man beobachtet deswegen bisweilen unter dem Epithel, beinahe in der ganzen Rindenstrecke des Eierstockes, eine kompakte Substanz, die sich nicht färbt und sämtliche Maschen des Bindegewebes miteinander vereinigt.

In der Rindenschicht befinden sich Blutkapillaren, die oft bis unter das Epithel hinreichen. Derartige, sich von größeren Stämmen abzweigenden und um die Eifollikel gelegenen Kapillaren könnten, meiner Ansicht nach, direkt die im Bindegewebe selbst gelagerten Stoffe aufsaugen und diese in Berührung mit den Wandzellen der Granulose bringen. Nicht nur auf diesem Wege, sondern auch durch das Bindegewebe selbst können die aufgesogenen Stoffe zum Zwecke der Eibildung gelangen. In der Tat gelangen die Bindegewebsbündel, die von der sog. Albuginea ausgehen und sich in das Innere der Eierstocksmasse verteilen, in die unterliegende Follikelzone und um-

kräuseln sie, um die Theca zu bilden. Eine solche Anlage wird sehr gut mittels Doppelfärbungen (mit Eisenhämatoxylin und amoniakalischem Karmin) gezeigt und zwar auf Eierstöcken von kleinen, mit Lecithin eingespritzten Kaninchen, da ja gelegentlich das Bindegewebsnetz sich lebhaft rot färbt. Da nun das amoniakalische Karmin ein mikrochemischer Farbstoff für die phosphorhaltigen Stoffe ist, so scheint die so lebhaft rot gewordene Färbung des Bindegewebsnetzes nur dem Vorhandensein des aufgesogenen und in den Kreislauf durch die Interstitialräume des Bindegewebes gebrachten Lecithins zu verdanken.

Literatur.

Arcangeli, A., I cambiamenti dell' epitelio intestinale del Box salpa L. durante l'assorbimento. Arch. di Anat. e di Embriol. Firenze. 1906.

Bezzola, G., Contributo alla conoscenza dell' assorbimento intestinale. Boll. Soc. Med.-Chir. Pavia. 1905.

De Luca, Eb., Ricerche sopra le modificazioni dell' epitelio dei villi intestinali nel periodo di assorbimento e nel periodo di digiuno. Boll. Reg. Accad. Med. Roma. 1905.

Galeotti, G., Über die Granulationen in den Zellen. Internat. Monatsschr. d. Anat. und Physiol. 1899.

Grünhagen, A., Über Fettresorption im Darmepithel. Arch. d. mikroskop. Anat. 1887.

Heidenhain, R., Beiträge zur Histologie und Physiologie der Dünndarmschleimhaut. Arch. Gesamtphysiol. Pflüger, Bonn. 1888.

Lukyanow, S., Eléments de Pathologie cellulaire. Paris. 1895.

Ders., Sur les modifications du volume des noyaux des cellules hépatiques chez la souris blanche sous l'influence de l'inanition complète et incomplète, comparativement à l'alimentation normale. Arch. Soc. Biol. Instit. Imp. Méd. St. Petersburg. 1897.

Mac Leod, J., Contribution à l'étude de la structure de l'ovaire des Mammifères Arch. Biol. Paris. 1880.

Marshall, F. A., Contribution to the Physiology of mammalian Reproduction. Part II. The Ovary as an Organ of internal Secretion. Phil. Trans. R. S. London. 1905.

Mingazzini, P., Cambiamenti morfologici dell' epitelio intestinale durante l'assorbimento delle sostanze alimentari. Nota Ia Rend. R. Acad. Lincei. Roma. 1900.

Ders., Nota IIa Ricerche fatte nel Laboratorio d'anatomia normale di Roma. 1900.

Ders., La secrezione interna nell' assorbimento intestinale. Ibidem. 1901.

Monti, R., Le funzioni di secrezione e di assorbimento studiate negli animali ibernanti. Regio Istituto Lombardo. Milano. 1903.

Ders., Nuovo contributo allo studio dell' assorbimento intestinale. Ibidem. Milano. 1907.

Mollison Th., Die ernährende Tätigkeit des Follikelepithel im Ovarium von Melolontha vulgaris. Zeitschr. f. wiss. Zoologie, Bd. LXXVII. 1904.

Oppel, A., Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Wirbeltiere. II. Teil: Schlund und Darm. Gustav Fischer. Jena. 1897.

Paladino, G., Ulteriori ricerche sulla distruzione e sul rinnovamento continuo del parenchima ovarico nei mammiferi. Napoli. 1887.
Pfitzner, W., Zur pathologischen Anatomie des Zellkerns. Virchows Archiv. Berlin. 1886.
Pflüger, Die Resorption der Fette vollzieht sich dadurch, daß sie in wässerige Lösung gebracht werden. Arch. Gesamtphysiol. Bonn. 1901.
Régaud, Cl. et Policard, A., Notes histologiques sur l'ovaire des Mammifères. I. Fonction glandulaire de l'épithélium ovarique et de ses diverticules tubuliformes chez le chien. Association des Anatomistes. 1901.
Russo, A., Sulla funzione di assorbimento dell' epitelio germinativo dell' ovaia dei Mammiferi. Monitore zool. italiano. Firenze. 1906.
Ders., Ulteriori ricerche sulla funzione di assorbimento dell' epitelio germinativo dell'ovaia dei Mammiferi. Bollet. Accad. Gioenia di Scienze naturali di Catania. 1907.
Trambusti, A., Contributo allo studio della fisiopatologia della cellula epatica. Ricerche del Laboratorio di Anatomia normale di Roma. 1895—96.
Van Beneden, E., Contribution à la connaissance de l'ovaire des Mammifères. Arch. Biol. Paris. 1880.
Waldeyer, W., Eierstock und Ei. Monographie. Leipzig. 1870.
Winiwarter, von, H., Recherches sur l'Ovogénèse et l'Organogénèse de l'ovaire des Mammifères (Homme et Lapin). Arch. Biol. Paris. 1900.

Funktion und Struktur der Granulose. Eigentümlichkeiten über die Call-Exnerschen Körper. Liquor folliculi.

Wenn sich die Follikularhöhle und der Cumulus oder Discus proligerus sich entwickelt haben, dann hat sich auch um das Ei herum das beinahe reife Ovarialfollikel angesammelt. In einem solchen Stadium sind verschiedene Zellelemente zu unterscheiden, die voneinander wegen ihrer Form und Funktion abweichen, und das hinsichtlich ihrer Lage in bezug auf das Ei und auf die Theca folliculi. Dieselben unterscheiden sich: 1. in Wandzellen, die in unmittelbarer Berührung mit der Theca folliculi stehen; 2. in Retinacula oder Bindegewebs- bezw. Verbindungszellen; 3. in Koronalzellen, welche über der Zona pellucida liegen. Außer derartigen Zellen sind bei der Untersuchung des Follikels in dem Zustande, in dem dasselbe betrachtet wird, noch die Interzellularsubstanz, die Körper von Call und Exner, und die Follikularflüssigkeit in Betracht zu ziehen.

Ich werde die einzelnen Elemente besprechen bei Betrachtung derselben in normalen, in überernährten und in jenen Kaninchen, die während der Fastenzeit oder Trächtigkeit untersucht wurden. Im allgemeinen kann man annehmen, daß die Variationen, welche unter

solchen Bedingungen vermittelst der Lecithineinspritzungen beobachtet wurden, in Wechselbeziehung mit dem Stoffwechsel des Eierstockorgans stehen, da ja die Granulose ein Aufsaugungs- und Verarbeitungsorgan der von auswärts kommenden Stoffe ist. Viele Forscher haben von Stoffen gesprochen, die von außen in den Follikel kommen, was auch leicht war, sich davon zu überzeugen, wenn man die innere Schicht der bindegewebigen Theca in Augenschein nimmt, die reichlich mit Gefäßen versehen ist. Nur Regaud und Policard beschrieben eigentümliche Körper, die in der Theca- und in den Granulosezellen sich vorfinden und die einen gewissen Wert für die Eiernährung haben. Solche, nach der Meinung dieser Forscher, in sehr frühreifen Stadien der Ovocytenentwicklung vorfindliche Körper sollen, ebenfalls nach denselben Forschern, mit dem Wachstum des Follikels sich vermindern, so daß sie, nach geschehener Bildung der Follikularflüssigkeit, kleiner und weniger zahlreich erscheinen, während das Ovoplasma reichlich damit versehen ist.

Außer den oben genannten sind keine wichtigen konkreten Angaben in der Literatur vorhanden, welche auf positive Art und Weise die gemeinsame Behauptung von der Aufsaugungsfunktion des Follikels und seiner Aufgabe als Ernährungsorgan des Ovocyten bestätigen. Nur Paladino hat zu allererst die Verbindungen beschrieben, die die Granulosezellen unter sich zeigen, und daraus gefolgert, daß sie ein wirksames System für die Verteilung der Säfte und daher für die Ernährung des Eies darstellen. Ein derartiger höchst positiver Befund zeigt uns aber nicht, wie die Stoffe eindringen, und auch nicht, welche Aufgabe diejenigen Zellen besitzen, die unter sich in Verbindung mit protoplasmatischen Brücken stehen.

In den oben erwähnten Stadien der Granulose zeigen die in unmittelbarer Verbindung und Berührung mit den Elementen der Theca folliculi und mit den Kapillaren stehenden Parietalzellen den Charakter der Aufsaugungszellen, und dies hauptsächlich im Falle, daß die Eierstöcke zur Brunstzeit oder nach künstlicher Überernährung mit Lecithin untersucht werden. Einige dieser Zellen haben tatsächlich, wie dies Fig. 7 zeigt, den Kern gegen die Basis hin verlegt, während das äußere mit der innersten Schicht der Theca in

Berührung stehende Protoplasma sich sehr verlängert, dabei auch granulöser und stärker gefärbt erscheint. Andere Zellen dagegen haben den Kern nach außen verlegt, beinahe in Berührung mit der Theca, während das unterliegende Protoplasma sich sehr deutlich zeigt und Fortsetzungen schickt, die unter sich anastomosierend ein Netz bilden und schließlich mit protoplasmatischen Fortsetzungen der nächstliegenden Retinacula sich vereinigen; vergleiche Fig. 8. Andere Elemente haben den Kern zentral gelegen mit ungefähr gleichviel äußerem und innerem Protoplasma.

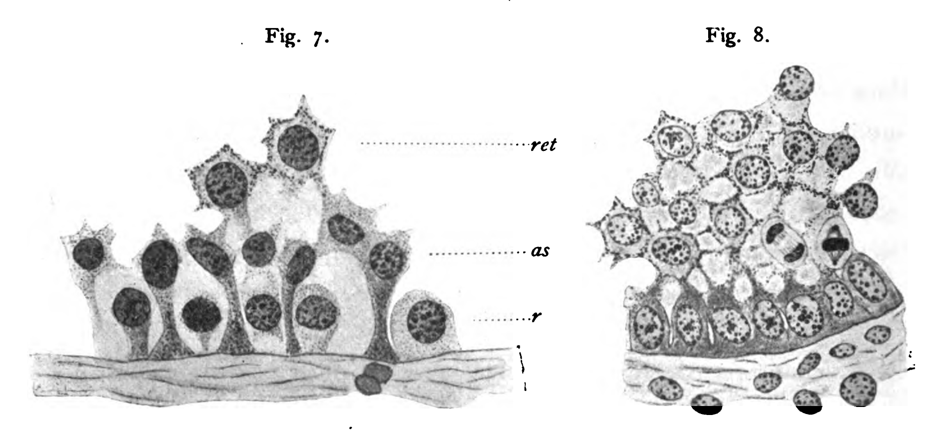


Fig. 7. Parietalzellen der Eigranulosa eines brünstigen Kaninchens in der Ruhe (*r*) und in der Aufsaugungsphase (*as*). Man bemerkt hier auch zwei Retinacula (*ret*) mit an der Peripherie befindlichen verarbeiteten Nährprodukten. Zeiss Comp. Okul. 6. Obj. hom. Imm. $^1/_{16}$.

Fig. 8. Parietalzellen der Granulosa eines mit Lecithineinspritzungen überernährten Kaninchens in der Phase innerer Aufsaugung. Diese Zellen sind mit den unterliegenden Retinaculis (*ret*) mittels protoplasmatischer Brücken miteinander verbunden. Der Kern ist gegen die Theca Folliculi hin verschoben. Vergrößerung wie oben.

Das oben beschriebene, von anderen Forschern nicht genügend gewürdigte Verhalten beweist ebenfalls, wie dies bereits beim Keimepithel früher bemerkt wurde, daß im ersteren Falle die Zelle von der Theca oder direkt von den Kapillaren, mit denen sie in Verbindung steht, die vom Blute oder von den Interstitialräumen des Bindegewebes herkommenden Stoffe aufsaugt; während im zweiten Falle die aufgesogenen Stoffe in das innere Segment der Zellen eindringen, und aus diesem Grunde verschließt sich der Kern nach außen. Im dritten Falle ist anzunehmen, daß die Wandzelle der Granulose in einer Ruheperiode hinsichtlich der Resorptionsfunktion sich befindet. Eine

derartige Funktion der Aufsaugung wird durch die Tatsache bestätigt, daß sämtliche Parietalzellen mit den unterliegenden Zellen durch protoplasmatische Brücken verbunden sind. Durch letztere dringen die von außen aufgesogenen Stoffe, um hier schließlich verarbeitet zu werden. Beim Fasten der Kaninchen sind die oben beschriebenen Resorptionsphasen nicht mehr sichtbar, und es kommt auch nicht selten vor, daß einige Zellen infolge von Entartungsvorgängen oder wegen Kernchromolyse vergehen. Auf diese Art und Weise verlieren sie ihre Beziehungen zu den Nachbarzellen.

Die unterliegenden, d. h. die Verbindungs- oder Retinaculazellen haben eine andere Funktion. Sie zeigen nämlich besondere Charaktere, auf Grund deren man annehmen muß, daß sie nach Art absondernder Zellen die Stoffe verarbeiten, welche sie mittels der Parietalzellen empfangen haben, wie man aus Fig. 7, 8 und 9 ersieht. Die Retinacula werden von unregelmäßigen sternförmigen Zellen gebildet, die sich vermöge ihrer Ausläufer mit den Nachbarzellen verbinden. Eine derartige Verbindung wird jedoch manchmal durch die von den Zellen selbst verarbeiteten Stoffe maskiert. Dieses Material häuft sich besonders in den Fällen von Überernährung an der Peripherie eines jeden Elementes an. In diesem Falle bilden sich große interepitheliale Räume, welche mit Massen oder Haufen von homogenen oder granulösen Stoffen angefüllt sind und die sich mit Eisenhämatoxylin stark schwarz oder dunkelviolett färben.

Sind diese Stoffe in geringer Menge vorhanden, so besteht jedes Retinaculum, wie man dies leicht beobachten kann, aus einem zentral gelegenen, von kompaktem Protoplasma umgebenen Kern, dem eine Schicht vakuolisierten und peripherisch gelagerten Protoplasmas folgt, das seinerseits außen verschiedenartig geformte, kompakte oder körnige Haufen an der Peripherie trägt, die aus sehr stark färbbarer Substanz besteht.

Ein derartiges Material befindet sich nicht bloß an der Peripherie der Zellen, mehr oder weniger dünne Schichten von Körnern oder sehr große Blöcke bildend, sondern auch an den protoplasmatischen Brücken entlang, die die Retinacula zusammen verbinden, so daß man annehmen muß, daß dasselbe Material einerseits in die inter-

epithelialen Räume sich ergießen und andererseits auch von der einen in die andere Zelle eindringen kann.

Fig. 9.

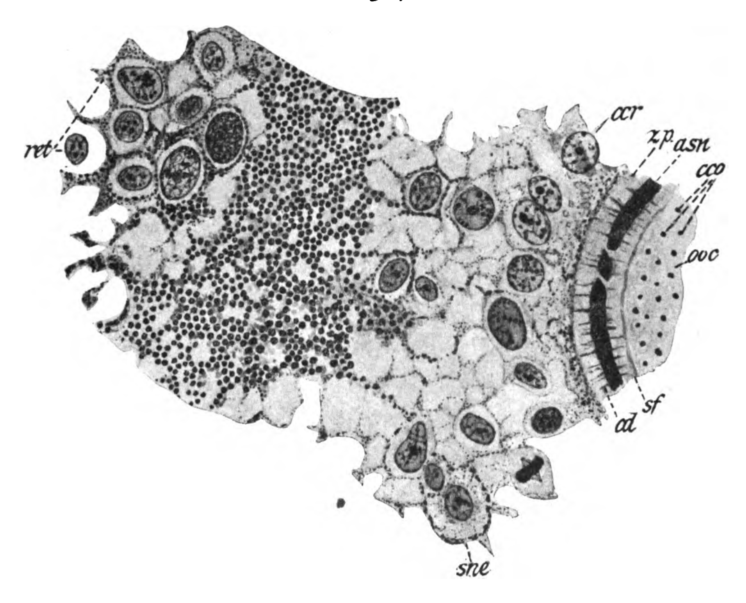


Fig. 10.

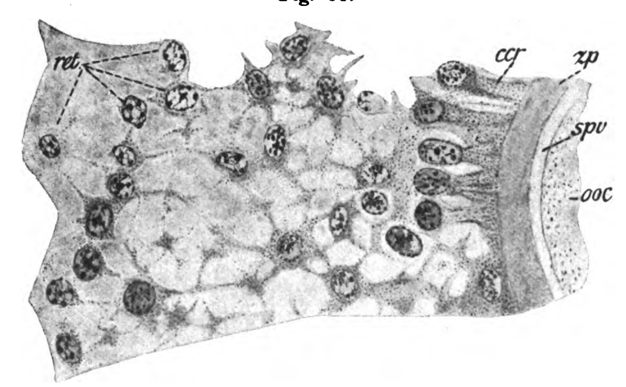


Fig. 9 und 10. Eigranulose mit Zellen der Corona radiata (*ccr*) und Retinacula (*ret*) von mit Lecithin überernährten und von fastenden Kaninchen. Die Retinacula zeigen ein von zentralem Protoplasma umgebenen Kern und peripherisches, vakuolisiertes, von Sekretionskörnchen begrenztes Protoplasma. Die Körnchen sammeln sich an den Interepithelialräumen an.

Fig. 9. Die Zona pellucida (*zp*) zeigt schwarze Platten (*asn*), die von Nährsubstanzhaufen herrühren, und radiäre Linien, welche die Diffusionsströme veranschaulichen. Der Eidotter ist reich an chromatischen (*cco*) Körpern.

Fig. 10. Die Retinacula, die Zellen der Corona radiata, der Zona pellucida und des Ovoplasma entbehren der Nährstoffe. Die Retinacula sind mittels protoplasmatischer Brücken unter sich und den Zellen der Corona radiata miteinander verbunden. Zeiss Comp. Okul. 6. Obj. hom. Imm. $^1/_{16}$.

Daß diese von außen gekommene und von den Retinaculis verarbeitete Produkte für das Leben des Eies nützlich und noch dazu bestimmt sind, einen Teil des Deutoplasmas zu bilden, kann man vergleichsweise beweisen, wenn man die Granulosa in überernährten Kaninchen und bei solchen, die auf mehrere Tage im Fastenzustande gehalten wurden, wie dies aus Fig. 10 zu ersehen ist.

Im ersteren Falle sind die Retinacula vollsäftig, mit rundlichem Kern (der in einigen wegen des angesammelten Chromatin stark gefärbt ist) und mit deutlichem in einer zentralen kompakten und in einer vakuolisierten peripheren Zone verteilten Protoplasma, ferner mit reichlichen Produkten der Verarbeitung an der Peripherie. In letzterem Falle bilden die Produkte selbst, wegen ihrer reichen Fülle, breite epitheliale Räume. An denjenigen Stellen, wo die Zellen mehr wie normalerweise oder gewöhnlich einander genähert sind, verschleiern sie die anastomotischen Züge zwischen den einzelnen Zellen.

Im zweiten Falle erscheinen die Retinacula beinahe kontrahiert und besitzen einen kleineren Kern als gewöhnlich mit geschrumpften Umrissen ohne Zentral- oder Peripherprotoplasma. Sie entbehren an der Außenseite der Verarbeitungsprodukte und deswegen sind die protoplasmatischen Fortsätze, welche die Zellen miteinander und unter sich verbinden, deutlich sichtbar. Bei dieser Gelegenheit ist die Bemerkung am Platze, daß die Behauptung von Regaud und Dubreuil: „daß die Retinacula globuliforme Gestalt mit einigen dicken Fortsetzungen haben", nicht zutreffend ist. Wie man bei der Granulose fastender Kaninchen beobachten kann, haben derartige Elemente eine unregelmäßig sternartige, gut ausgeprägte Form in Übereinstimmung mit Paladinos Beschreibung.

Wird das Fasten auf einige Tage hinaus verlängert (zwanzig und mehr Tage) mittels Verabreichung einer minimalen Menge von Nahrungsmitteln, so vergehen oder dehiszieren die Granulosezellen, und zwar sowohl die Parietalzellen wie die Retinacula, jedoch mehr diese wie jene. Sie zerfallen demnach infolge eines chromolytischen Prozesses, welcher die Kerne angreift. Einige der letzteren scheinen aus einem oder mehr homogenen globuliformen Körperchen gebildet zu sein, die sich im Protoplasma verteilen. Dieser hat bereits seine

Beziehungen zu seinen Nachbarzellen verloren, indem er gleichsam die Form einer beinahe ganz durchsichtigen Kugel erworben hat.

Im weiteren Verlaufe vacuolisiert sich das Protoplasma immer mehr und zerstört sich, während die schwarzen globuliformen Körperchen, die aus der chromolytischen Zerstörung des Kernes hervorgegangen sind, persistieren und sich zwischen den einzelnen Zellen verteilen.

Einen derartigen degenerativen Prozeß bemerkt man auch in den vollkommen entwickelten Follikeln, in welchen eine geräumige Follikelhöhle sich bildet, während in den ein- und mehrschichtigen Follikeln mit Anzeichen von Interepithelialräumen, dieselbe höchst selten zu beobachten ist.

Ich will noch beiläufig bemerken, daß in der Granulose fastender Kaninchen fast niemals Zellen in der kariokinetischen Phase anzutreffen sind, währenddem, wie bekannt, diese Phasen in Normaltieren sehr gewöhnliche Vorkommnisse sind. In dieser Beziehung ist noch der Umstand bemerkenswert, daß bei den mit Lecithin überernährten Kaninchen die Coronal- und Parietalzellen in größerer Menge als gewöhnlich und zwar in mitotischer Phase vorhanden sind. Diese letzte Erscheinung steht gewiß in Verbindung mit der größeren Ernährung der Eierstöcke.

Die peripherischen Retinacula verbinden sich normalerweise mit ähnlich gebildeten Fortsätzen der Parietalzellen, während die in der Nähe des Eies vorhandenen mit denen der Corona radiata sich vereinigen. Wenn sich dann eine geräumige Follicularhöhle ausgebildet hat und das Ei beinahe reif ist, scheinen die Retinacula der Parietalgranulosa, vornehmlich die mehr im Inneren liegenden und weiter vom Discus proligerus vorfindlichen, ihre Fähigkeit einzubüßen, die Stoffe von den Parietal- zu den Coronarzellen zu leiten. Dieselben sind wirklich auch kleiner und beinahe im Entartungszustande. Einige von diesen Elementen, nämlich diejenigen, welche näher der Follikelhöhle gelegen sind, trennen sich infolgedessen los, und, indem sie der Entartung anheimfallen, bilden einen Teil der Follikularflüssigkeit.

Die Zellen der Corona radiata haben bekanntlich in der Regel eine Birnenform mit Basalprotoplasma, das in der Zone mit nach

außen verlegtem Kern inseriert ist. Das darüber liegende Protoplasma sendet von Strecke zu Strecke Fortsetzungen, die sich mit den naheliegenden der Retinacula anastomosieren, so daß die Zellen der Corona radiata die letzte Wegesetappe darstellt, welche die Stoffe einschlagen, bevor sie an das Ei gelangen. Die Zellen der Corona radiata haben alle das Aussehen von Drüsenelementen, denn außer der charakteristischen Form bieten sie das an diese Zone anliegende Protoplasma bald von vokuolärem, bald von granulärem, bald von filamentösem Aussehen, je nach den angewendeten Reagentien.

Diese von Crety für die Chiropteren, von Regaud und Policard, Regaud und Dubreuil für das Kaninchen und den Hund bestätigte Tatsache, findet bei diesen Untersuchungen noch weitere Bestätigung, da ja derartige Zellen, wie aus Fig. 17 ersichtlich, größer sind und das über der Zona pellucida liegende Protoplasma stärker entwickelt zeigen. Hier ist das durch die Retinacula gelangte Nährmaterial auch größer, wie dies öfters bei Kaninchenfollikeln während der Brunstzeit zu beobachten ist oder in denen von Kaninchen, die mit Lecithin übererernährt worden sind. Hier in Gemeinschaft mit der Zellform, ist noch reichlicher das verarbeitete Material, das über die Zona pellucida in Form einer großen Körnerschicht und innerhalb derselben Zona in einen Haufen sich ansammelt, welcher der Zona selbst mit Eisenhämatoxylin einen stark schwarzen Anschein verleiht, während er sich mit dem Zinnmolybdat in blau färbt. Die drüsige Form der Zellen, die dem Ovocyten aufliegen, zeigt sich viel deutlicher, falls der Follikel einschichtig ist. Hier sind die Zellen länglich, mit peripher liegendem Kern, mit verjüngtem, unterliegendem Protoplasma und mit globuliformen Körperchen angefüllt, die gleich dem Sekrete vieler Drüsenzellen den Anschein und das Aussehen einer vakuolisierten Masse geben. Auch die Tatsache ist dabei noch bemerkenswert, daß eine derartige Struktur der Zellen der Corona radiata in den einschichtigen Follikeln der Eierstöcke lecithinierter Kaninchen sich sehr deutlich zeigt, ein Beweis, daß diese Behandlungsweise von Einfluß auf die Aktivität der Absonderungserscheinungen in den Epithelien der Eierstöcke ist. Bei fastenden Kaninchen liegen die Zellen der Corona radiata in dem basalen Teil (Fig. 10), wo sie

mit der Zona pellucida sich berühren, entbehren der granulären oder filamentösen Substanzen, wie diese oben für die Normalkaninchen oder bei künstlich überernährten Tieren beschrieben wurden. Nur selten entarten die Zellen der Corona radiata während der Fastenzeit durch Chromolyse. Auch im Discus proligerus ist eine derartige Entartungserscheinung ein seltenes Vorkommnis, währenddem eine solche in der Parietalgranulose ungemein häufig vorkommt.

Eigentümlichkeiten der Call-Exnerschen Körper.

Man hat vielfach über solche eigentümliche Bildungen der Granulose diskutiert. Die diesbezüglichen Meinungen sind die verzweifeltsten. Auch ist man noch heutigen Tages zu gar keinem übereinstimmenden Übereinkommen gelangt, um diesen noch rätselhaften Körpern ihre wahre morphologische und funktionelle Bedeutung zu geben. Die neuesten Forscher, bei Einhaltung der nämlichen Wege ihrer Vorgänger, haben im positiven Sinne nichts neues hinzufügen können zu dem, was Flemming, Paladino, Rabl, Honoré und viele Andere bereits behauptet hatten. Indem ich mich davon abgewandt und künstlich in der gesamten Ovarialstruktur Modifikationen beigebracht habe, habe ich auch einige Partikularitäten entdecken können, die von hoher Bedeutung für die Funktion der Call-Exnerschen Körper sind. Will man sich über die ausgedehnte diesbezügliche Literatur orientieren, so können die neuesten italienischen Arbeiten von Levi und Ragnotti dazu dienen, die eine genaue Auseinandersetzung darüber geben.

Der Inhalt der in Frage stehenden Körper ist nicht immer von derselben Struktur, besonders in bezug des diesbezüglichen speziellen Stoffwechsels. In allen Fällen jedoch sind die diese Körper begrenzenden Zellen, von länglicher Form mit peripher liegendem Kern und unterliegendem Protoplasma, das den Inhalt eines Callschen Körpers begrenzt und der gleich dem der Absonderungszellen sehr entwickelt ist. Daß gerade dieses ihre Aufgabe ist, kann man ermitteln, wenn man einen Callschen Körper der Granulose eines mit Lecithineinspritzungen überernährten Kaninchens beobachtet. In diesem Falle besteht der Inhalt, um mich so auszudrücken, aus großen Körnern, die sich sehr



stark mit Eisenhämatoxylin färben, ähnlich, wie man dies auch an der Peripherie der sogenannten Retinaculazellen und an der Basis der Zellen der Corona radiata oder im Innern der Zona pellucida beobachtet hat. Einige der oben genannten Körner stehen, an der Peripherie verteilt, in Berührung mit dem basalen Protoplasma derjenigen Zellen, welche den Inhalt des Körpers selbst begrenzen. In anderen ähnlichen Bildungen besteht der Inhalt aus einem Netz, das sich hingegen aus Mangel an myelinischen, oben beschriebenen Substanzen nicht färbt.

In diesen Fällen ist der Stoffwechsel der fraglichen Bildung wenig lebhaft, wie man dies in allen Granulosen der vor der Brunstzeit getöteten Kaninchen oder nur in einigen Granulosen während dieser Periode beobachten kann. In der Fastenzeit besteht der Inhalt der Callschen Körper aus einem unfärbbarem Gerinnsel, deren Zellen die Drüsenform nicht in der oben beschriebenen, so charakteristischen Form zeigen; ja, in gewissen Fällen befinden sich die Zellen im Entartungszustande, gleich dem, welchem die Retinacula auch verfallen. Der Inhalt der Callschen Körper ergießt sich in die Interepithelialräume und bildet schließlich einen Teil des Liquor folliculi, wie dies in der Fig. 11 zwischen den Limitarzellen deutlich sichtbar ist. Für einen derartigen Befund muß man zugeben, daß die Zellen der Call-Exnerschen Körper mit einem Prozesse, der demjenigen der Retinacula analog ist, einen Teil des Nährmaterials bereiten, der in letzter Instanz zur Entwicklung des Ovocyten dient. Wie aus derselben Figur ersichtlich, sind die diese Körper begrenzenden Zellen mit den Retinaculis mittels protoplasmatischer Anastomosen verbunden. Daher ist

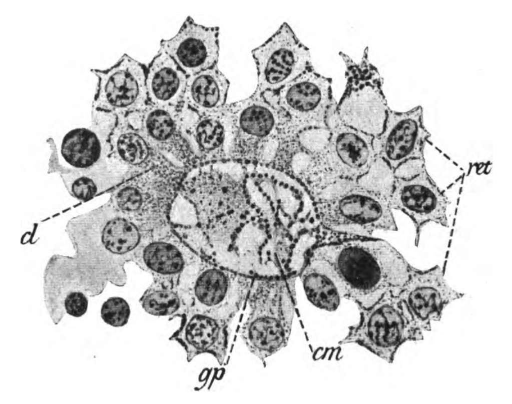


Fig. 11. Call-Exnerscher Körper in der Parietalgranulosa eines durch wiederholte Lecithineinspritzungen überernährten Kaninchens: *cl* peripherische Callsche Zellen; *cm* myelinischer Inhalt; *gp* peripherische Körnchen; *ret* Retinacula. Zeiss Comp. Okul. 6. Obj. homog. Imm. $^1/_{16}$.

auch schon wegen dieser Tatsache anzunehmen, daß diese Körper nichts anderes sind als besondere Stellen, wo das deutoplasmatische Material sich bildet. Die erste Anlage jedoch derartiger Bildungen ist in der eigentümlichen Charaktereigenschaft einiger Granulosezellen zu suchen, die gleichsam den Mittelpunkt bilden, um welchen herum die Nachbarzellen in radialer Richtung sich anpassen und die hernach den Call-Exnerschen Körper umgrenzen.

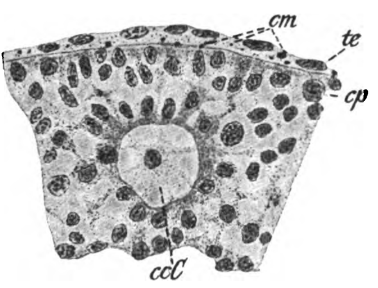


Fig. 12. Call-Exnersche Körper im 5 monatlichen Kaninchen, welches 3 Subkutaninjektionen von je 5 ccm Lecithinlösung erhielt. Man bemerkt im Innern Sternzellen, die wahrscheinlich im Zerfall begriffen sind. *te* Theca folliculi; *cp* Parietalzellen der Granulose; *ccC* Centralzellen der Call-Exnerschen Körper. Zeiss Comp. Okul. 6. Obj. 3.0 mm.

Wie aus der Fig. 12 ersichtlich, die fast reife Follikeln von Kanincheneierstöcken von 4—5 Monaten und die mit Lecithin eingespritzt worden waren, darstellt, besteht der Inhalt genannter Körper ausschließlich aus 1—2 Zellen mit beinahe atrophischem Kern und mit Protoplasma, das verschiedene Fortsetzungen in die Nachbarzellen entsendet. Derartige Zentralzellen, welche, nur hypothetisch angenommen, jedoch nicht von den vorhergehenden Beobachtern, wie: Flemming, Rabl und anderen gesehen wurden, zeugen, daß sie die erste Anlage der Call-Exnerschen Körper darstellen. Rings um diese Zellen, die sich auflösen, um die Anfänge bezw. den Kern des deutoplasmatischen Materiales der Call-Exnerschen Körper zu bilden, passen die nachbarlichen Retinacula an und zwar radialwärts, um eine deutlichere Form von Drüsenzellen anzunehmen. Die Zentralzellen sind demnach ursprüngliche Retinacula, deswegen kann man ihnen nicht eine besondere Bedeutung als Nährzellen beimessen, wie bei den Insekten nach der Ansicht von Nagel.

Liquor folliculi.

Die erste Quelle des Materials, welches den Liquor folliculi bildet, muß in der Theca folliculi gesucht werden, wo es mit dem Blut und den Interstitialräumen des Bindegewebes gelangt. Hier befinden sich tatsächlich, wie dies ja bereits Regaud und Policard

zugegeben haben, Sekretionsprodukte, welche denen ähnlich sind, die man in den Zellen der Granulosa und des Ovoplasma vorfindet. Wie es ebenfalls aus der nachstehenden Fig. 13 ersichtlich ist, befinden sich solche globuliforme Körperchen außerhalb der Thecazellen und über den Parietalzellen der Granulose, welch letztere das Nährmaterial empfangen, um es vermittels der oben angegebenen Prozesse in den Ovocyten gelangen zu lassen. Diese Figur wurde von Schnitten aus den Eierstöcken eines überernährten Kaninchens erhalten, so daß ich annehmen muß, daß, mittels des von mir angewendeten Behandlungsverfahrens, die lecithinischen Stoffe sogar direkt zur ovulären Bildung, durch die interepithelialen Räume des Bindegewebes, gelangen können. Es ist indessen nicht auszuschließen, daß andere Eierstockselemente tätigen Anteil an der Bereitung der Nährstoffe selbst nehmen, wie beispielsweise die Interstitialzellen der Theca und dieselben der Interstitialdrüse. In den mehrschichtigen Follikeln, wie dies aus Fig. 13 ersichtlich, in welcher noch keine Spur von Interepithelialräumen zwischen den einzelnen Zellen vorhanden sind, trifft man bereits eine Substanz an, die sich mit Eisenhämatoxylin stark schwarz oder mit Zinnmolybdat blau färbt. Diese Substanz von homogenem Aussehen bildet hie und da Häufchen bezw. Hügelchen vornehmlich bei lecithinierten Kaninchen. Sie umfaßt sämtliche Zellen, von den äußersten oder parietalen bis zu den innersten oder koronalen, wo sie sich dann mit den Materialien der Zona pellucida vereinigt.

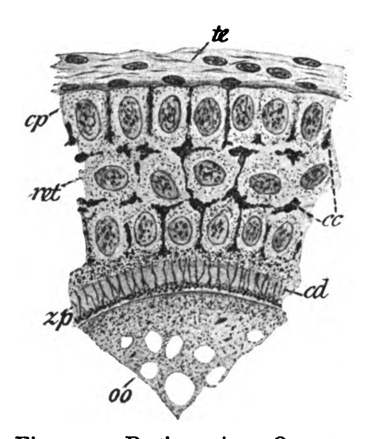


Fig. 13. Portion eines Ovocyten mit seinem Follikel, um die zwischen den Zellen niedergeschlagenen Stoffe sowie ihre Anteilnahme an der Bildung der punktierten Schicht, die außerhalb der Zona pellucida liegt, zu veranschaulichen. Die Zona pellucida ist von Strömungen durchzogen, welche an derselben Schicht ihren Anfang nehmen und in einer anderen Schicht von über dem Eidotter liegenden Körnchen aufhören bzw. endigen. *cc* chromatische Körper; *cd* Körnchenströmungen; *cp* Parietalzellen der Granulosa; *ret* Retinacula; *oo* Ovoplasma; *zp* Zona pellucida. Zeiss Comp. Okul. 6. Obj. hom. Imm. $^1/_{16}$.

Im Verlaufe der weiteren Entwicklung vergrößert sich eine derartige Substanz an bestimmten Stellen bedeutendermaßen, so daß

mehr oder weniger ausgedehnte Räume von unregelmäßiger Form sich bilden. Aus diesem Grunde sind dieselben von den oben beschriebenen Callschen Körpern gut zu unterscheiden. In der Folgezeit verbinden sie sich miteinander und bilden größere Räume, die schließlich die Follikularhöhle darstellen. Der Inhalt der interepithelialen Räume und der follikulären Höhle besteht bei den lecithinierten Kaninchen im allgemeinen aus flüssigem Material und aus globuliformen Körperchen verschiedener Größe. Diese färben sich ungemein stark schwarz mit Eisenhämatoxylin oder blau mit Zinnmolybdat.

Bei fastenden Kaninchen ist der Liquor folliculi, sowohl in den interepithelialen Räumen, als auch in den großen follikulären Höhlen, ganz und gar frei von globuliformen Körperchen und besteht aus einer farblosen, homogenen Masse. Das gleiche beobachtet man in den Follikeln von 4—5 Monate alten Kaninchen, ehe diese in die Brunstzeit eintreten, was zur Bestätigung dient, daß in solchen Zeitperioden der Stoffwechsel des Eiorgans wenig lebhaft ist. In der Brunstzeit jedoch zeigt sich nicht in allen Follikeln die darin vorfindliche Flüssigkeit reich an globuliformen Stoffen, denn einige derselben sind wenig oder gar nicht damit versehen, was andererseits beweist, daß der Stoffwechsel von der einen zur anderen Eibildung abwechselt und zwar selbst in dem einen und demselben Eierstock. Außer derartigen Stoffen sind im Liquor folliculi Zellelemente im Zerfalle begriffen. Dieselben sind nichts anderes als Granuloseelemente und eigentliche Retinacula, welche die Verbindung mit den Zellen einbüßend und sich in der Nähe der Follikelhöhlen befindend, atrophieren und sich dabei auflösen. Die Beteiligung der Granulosezellen an der Bildung der Follikulärflüssigkeit bildet nicht, wie es einige annehmen, die erste Stufe dieses Prozesses, da ja, wie früher erwähnt, die erste Spur der interepithelialen Räume, die hernach die Follikelhöhle bilden, das Nährmaterial darstellen, welches von der Theca herrührt und von den Retinaculis verarbeitet wird.

Die Gegenwart von Zellelementen in der Follikularflüssigkeit normaler Kaninchen gewahrt man bei sehr vorgeschrittener Entwicklung, und eigentlich erst dann, wenn die Retinacula wegen der

Ansammlung von reichlichen Nährmaterialstoffen in der Follikularhöhle nicht mehr funktionieren. Beim Fasten hingegen entarten die Zellen der Parietalgranulose in Berührung mit der Follikularflüssigkeit durch Chromolyse des Kernes und trennen sich in großer Menge (Fig. 14) von einander ab, so daß sich unter solchen Verhältnissen in der Follikularflüssigkeit viele globuliforme Elemente im Entartungszustande ansammeln. Ein derartiger Vorgang, der sich oft und reichlich in der Granulose fastender Kaninchen wiederholt, läßt daran denken, daß die Zellen sich auflösen, um das Ei mit den Nährmitteln zu versehen, die nicht mehr von außen kommen. Der Entartungsvorgang ist auch ähnlich dem, der in den dotterbildenden bezw. vitellogenen Zellen von einigen Platoden dazu bestimmt ist, die Zellen in deutoplasmatische, globuliforme Körperchen umzubilden. Dieser Umstand könnte auch dazu benutzt werden, die funktionelle und morphologische Bedeutung der Granulose bei den Säugetieren in passender Weise erklären zu können.

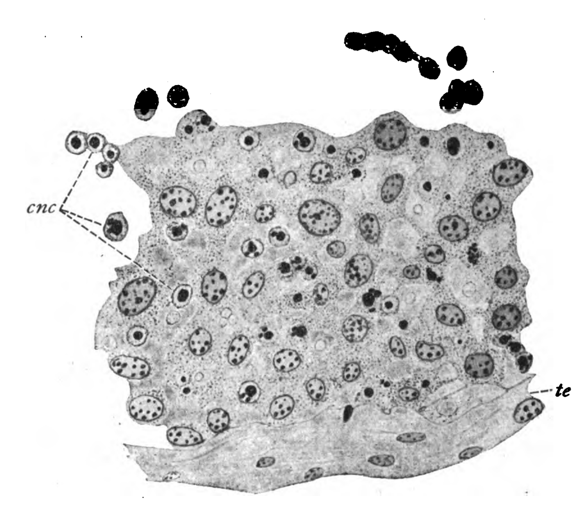


Fig. 14. Portion einer Parietalgranulosa eines Fastenkaninchens. Viele Retinacula sind wegen Kernchromolyse entartet. Im Liquor folliculi befinden sich viele derartige Elemente. Vergrößerung wie in Fig. 13.

Literatur.

Crety, C., Contributo alla conoscenza dell' ovario dei Chirotteri. Ricerche del Labor. di Anat. normale. Roma. 1893.

Flemming, W., Regeneration verschiedener Epithelien. Arch. microskop. Anat., Bd. XXIV, 1883.

Ders., Über die Bildung von Richtungsfiguren in Säugetiereiern beim Untergang Graafscher Follikel. Arch. d. Anat. u. Physiol. Anat. Abth. 1885.

Honoré, Cl., Recherches sur l'ovaire du lapin. Ière Note sur les corps de Call et Exner. Arch. de Biol. Paris. 1900.

Janosik, J., Zur Histologie des Ovariums. Sitzungsberichte der K. K. Akademie der Wissenschaften. Wien. 1887.

Levi, G., Dei corpi di Call ed Exner dell' ovaia. Monitore zool. italiano. Firenze. 1902.

Nagel, W., Das menschliche Ei. Arch. d. mikroskop. Anat. 1888.

Paladino, G., Ulteriori ricerche sulla distruzione e sul rinnovamento continuo del parenchima ovarico nei Mammiferi. Napoli. 1887.

Rabl, H., Beiträge zur Histologie des Eierstockes des Menschen und der Säugetiere. Anat. Hefte von Merkel und Bonnet. 1898.

Ragnotti, Contributo all' istologia dell' ovaia dei mammiferi. L'origine ed il significato dei corpi di Call ed Exner. Annali della Facoltà di Medicina di Perugia. 1902.

Regaud, Cl. et Dubreuil, G., La constitution de la zone pellucide et les rélations de l'épithélium folliculaire avec l'ovule dans l'ovaire du lapin. Comptes rendus de l'Association des Anatomistes. 1905.

Regaud, Cl. et Policard, Notes histologiques sur l'ovaire des mammifères. III Sécrétion par les cellules folliculaires d'un produit particulier et accumulation de ce produit dans le protoplasma de l'ovule chez le chien. Assoc. des Anatomistes. 1901.

Funktion und Struktur der Zona pellucida.

In einem Aufsatz über diesen Gegenstand habe ich die bestehenden Widersprüche in betreff der Beschaffenheit und Zusammensetzung der Zona pellucida und ihrer Anteilnahme an den Ernährungserscheinungen des Eies bei den Säugetieren hervorgehoben. Viele und verschiedenartig sind die geäußerten Ansichten, um die verschiedenen Probleme, die sich an dieselben anknüpfen, zu lösen. Keine derselben stützt sich aber auf experimentellen Proben und kann deswegen zu entscheidenden Erfolgen führen, wiewohl die hervorragendsten Morphologen, wie Waldeyer, Van Beneden, Flemming, Nagel, Paladino, Retzius u. a. sich damit beschäftigt haben.

Von der Annahme, daß die Zona pellucida eine strukturlose Membran ist, wie Sobotta es für die Maus zugibt, bis zu der anderen, daß sie von Porenkanälchen durchsetzt ist, weswegen protoplasmatische Fortsetzungen von den überliegenden Zellen ausgehen (Pflüger und Van Beneden), kommt man zu der heute von allen Morphologen allgemein angenommenen und in Abhandlungen, wie im „Handbuch der Histologie" von Kölliker, red. von Ebner, ferner im Hertwigs „Handbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte" ausgesprochenen Ansicht, daß nämlich die Zona pellucida aus Fort-

setzungen oder Brücken zusammengesetzt ist, welche das Ei mit der Granulose in Verbindung setzen. Derartige Brücken, die von den Zellen der Granulose des Eies ausgehen und die als vorhandene Bildungen von Heape, Flemming, Kolossow, Paladino, Retzius und anderen behauptet wurden, sollten das Gerüst der Eimembran bilden, welches Gerüst von einer Grundsubstanz ergänzt und vervollständigt würde, welche mit dem Gerüst selbst die Zona pellucida bilden würde.

Von einer minutiösen diesbezüglichen bibliographischen Auseinandersetzung absehend, die sonst in dem oben angeführten Kölliker-Ebnerschen Werke enthalten ist, will ich jedoch auf eine Arbeit von Regaud und Dubreuil aufmerksam machen, welche beinahe zu gleicher Zeit mit meinem früher erwähnten Aufsatz erschien. Die zwei letztgenannten Forscher stellen sich gegen die allgemein herrschende Meinung, daß nämlich Ovoplasma und Granulose durch protoplasmatische Brücken verbunden sind, und liefern somit eine Bestätigung meiner bereits veröffentlichten experimentellen Ergebnisse. Während aber dieselben die Bänder bezw. Streifen als eine Substanz darstellen, die aus einer äußeren Schicht der Zona pellucida stammt, die sie Filz bezw. Filzgebilde nennen, weil letztere wie von mit ineinander verflochtenen Fäden gebildet werden und der äußeren körnigen Schicht Waldeyers entsprechen, geben diese zwei Forscher keinen konkreten Beweis über den Durchgang der Substanzen. Übrigens hat auch Crety von Nährsubstanzen gesprochen, die in der Zona pellucida enthalten sind und die unter dem Einfluß von Fixierungsmitteln zu gewobenen oder geflochtenen Fäden sich zusammentun. Eine derartige Vermutung wurde jedoch keineswegs bewiesen. Paladino selbst, wiewohl er immer die protoplasmatischen Brücken zugibt, welche das Ei mit dem Discus proligerus verbinden, sagt: „Die Zona pellucida ist als eine Verdickung des übermäßigen Nährmaterials zu betrachten, welches für das Ei vom Discus proligerus bereitet wird“.

Wie mit der Granulose so wurden auch die Beobachtungen mit den Eierstöcken von Kaninchen wiederholt, die unter verschiedenen Bedingungen getötet wurden, nämlich entweder unter natürlichen,

d. h. vom Alter der Individuen oder von der Trächtigkeit abhängigen oder unter künstlichen, nämlich nach dem Fasten oder nach der Überernährung bei Lecithineinspritzungen. Mögen aber die Bedingungen der zu untersuchenden Kaninchen sein, was sie wollen, kann man stets erkennen, daß zwei Elemente in verschiedenem Maße die Zona pellucida zusammensetzen und daß dieselben in zwei verschiedenen Momenten des Eilebens sich entwickeln, indem sie sich je nach dem speziellen Stoffwechsel während der Eibildung bald mehr, bald weniger deutlich zeigen. Auch Regaud und Dubreuil bestätigten, daß zwei Substanzen, deren eine eine Grund- und deren andere eine Schaltsubstanz ist, an der Bildung der Zona pellucida teilnehmen. Über ihre Natur, Herkunft und über ihr weiteres Schicksal wird nichts berichtet.

Eines der den Fundamentalteil der Zona pellucida bildenden Elemente beginnt in den kleinsten Ovocyten mit einschichtigen Follikeln und beinahe kubischen Zellen sich anzulegen, und ist von gelblicher Farbe nach Eisenhämatoxylinfärbung und nach Fixierung mit alkoholischem Sublimat. Es hat übrigens ein kompaktes Aussehen und haftet an der Oberfläche des Ovocyten an. Eine derartige Schicht ist eine unmittelbare Emanation der Follikelzellen, die sich wie Drüsenzellen verhalten, indem sie einen verlegten Kern gegen das distale Ende besitzen, während das darüberliegende Protoplasma des Ovocyten sich verlängert und ein globulöses oder granulöses Aussehen zeigt.

In weiter entwickelten Ovocyten mit einschichtigem Follikel und nicht mehr kubischen, sondern verlängerten Zellen oder in solchen Ovocyten, bei welchen neue Zellschichten sich zu bilden anfangen, tritt ein neues Element auf, um an der Bildung der Zona pellucida teilzunehmen und verbindet sich an die bereits im ersten Moment des Entstehens des Ovocyten verarbeitete Substanz.

Ein derartiges Element gelangt, wie im vorigen Kapitel gesagt wurde, zur Ovularformation vermittels des Blutes oder der Bindegewebszwischenräume und stellt das Ernährungselement des Ovocyten dar, das schließlich an der Bildung des deutoplasmatischen Material teilnimmt. Eine derartige Substanz unterscheidet sich von der vorher verarbeiteten Substanz des Follikels wegen ihrer stark schwarzen Fär-

bung mit Eisenhämatoxylin. Wegen der blauen Farbe der Schnitte mit Zinnmolybdat zeigt sie anfangs die Form von mehr oder weniger großen Punkte und Stellen, die regelmäßig aneinandergereiht sind und zwar nach Art eines Rosenkranzes in dem Gewebe der den Ovocyten bedeckenden Fundamentalmembran. In vorgeschritteneren

Fig. 15.

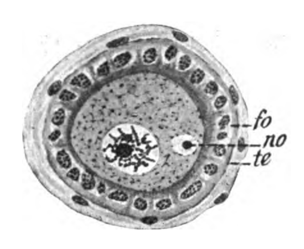


Fig. 16.

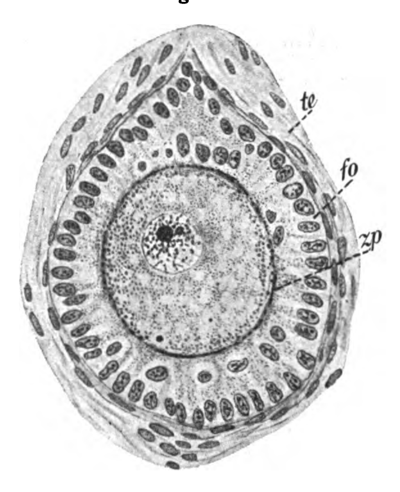


Fig. 15 und 16. Ovocyten mit einschichtigem Follikel, um die Entwicklung der Zona pellucida und die glanduläre Form ihrer Zellen zu veranschaulichen. (In Fig. 15 enthalten derartige Zellen offenbar Sekretionskörnchen.) (In der Fig. 16 enthält die Zona pellucida acidophile chromatische globuliforme Körperchen rosenkranzförmig angeordnet. Im Eidotter befinden sich ebenfalls chromatische, globuliforme Körperchen.) *fo* Follikel; *no* Dotterkern; *te* Theca folliculi; *zp* Zona pellucida. Fixierung mit Sublimat. Färbung mit Eisenhämatoxylin. Zeiss Comp. Okul. 6. Obj. 3.0 mm.

Zuständen der Ovocyten mit vielschichtigem Follikel, in dem die Follikularflüssigkeit sich zu bilden anfängt (vgl. Fig. 17), besteht die Zona wegen der reichlichen Ansammlung der erwähnten globuliformen Körperchen aus einer sehr stark schwarz gefärbten Schicht, welche hie und da unterbrochen ist, und sich an das Ovoplasma legt.

Eine derartige Schicht, welche einem Teil der Zellen der Corona radiata gegenüberliegt, ist sehr blaß, fast gelblich wie die Grundsubstanz der genannten Zona und setzt sich mit dem Protoplasma der Koronalzellen selbst fort. Dieses Protoplasma zeigt im Vereinigungspunkte mit der Koronalzone eine Verdickung von Körnchen, die sich nach Eisenhämatoxylinanwendung schwarz färben, indem sie im Ganzen eine charakteristische granulöse Schicht über der Zona pellucida bilden, die der Filzschicht von Regaud und Dubreuil entspricht. Fast gleichzeitig mit meinem über denselben Gegenstand

vorher veröffentlichten Aufsatz, gaben letztere Forscher zu, wie ich es auch getan hatte, daß die verarbeiteten Stoffe der anderen Zellen der Granulose in eine solche Schicht zusammen kommen, oder daß dieselben auf dem Wege der interepithelialen Räume direkt von außen herkommen. Und in der Tat setzt sich die punktierte Schicht, von der ja die Rede ist, in den Zwischenräumen zwischen den einzelnen Zellen der Corona radiata mit den angesammelten Stoffen in die sogenannten Retinaculazellen, wie man dies in Figg. 17 und 23 deutlich sieht.

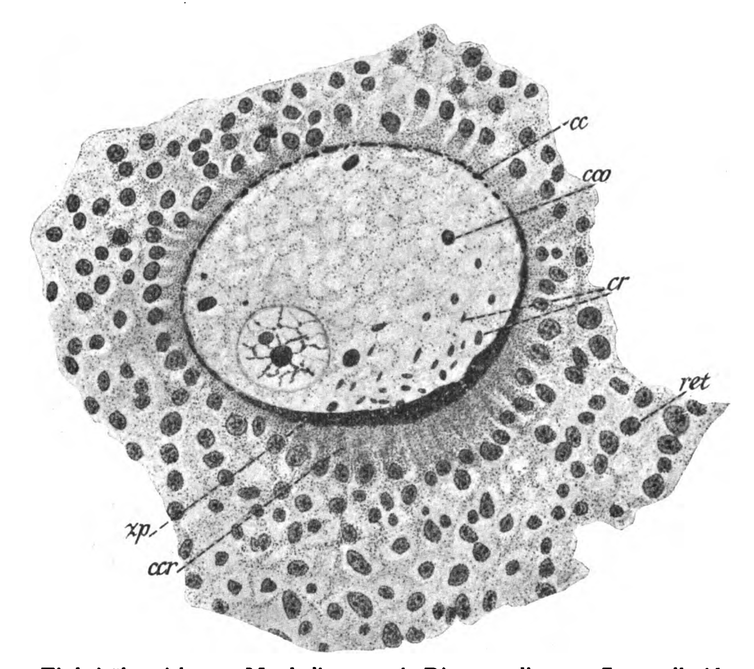


Fig. 17. Ei, bei übertriebenem Metabolismus, mit Discus proligerus. Zona pellucida reich an Nährstoffen. Eidotter mit chromatischen und kristalloiden Körpern besät. Die Zellen der Corona radiata sind stärker entwickelt, entsprechend der größeren Ansammlung von Nährstoffen der Zona pellucida. *cc* chromatische Körper; *cco* chromatische Körper des Ovoplasma; *cr* Cristalloide; *ret* Retinacula. Fixierung mit Sublimat. Färbung mit Eisenhämatoxilin. Zeiss Comp. Okul. 6. Obj. 3.0 mm.

In einigen zur Reife gelangten Eiern ist die Zona pellucida, wie man es in Fig. 23 sieht, nicht immer in ihrer ganzen Ausdehnung schwarz gefärbt. In einem derartigen Falle bildet sie sich aus der gelblichen Grundsubstanz und aus winzigen schwarzen Streifchen, welche im Mittelpunkt der Zona pellucida gelegen sind und die,

bei mittlerer mikroskopischer Vergrößerung betrachtet, einerseits gegen den Dotter hin, andererseits gegen die Granulosa hin, dem Blick entgehen bezw. sich verlieren. Wenn man aber solche Stellen genauer bei Immersion untersucht, so bemerkt man, daß, während der zentrale Teil gleichmäßig schwarz ist, der peripherisch unsichtbare Teil von unregelmäßig ausstrahlenden Streifen besteht, die oft miteinander anastomosieren und ebenfalls eine schwarze Farbe aufweisen. Derartige Streifen gehen von der äußeren, granulösen Schicht aus, die unter den Zellen der Corona radiata liegt, und indem sie in die Zona pellucida eindringen, verbinden sie sich mit den schwarzen Platten, die als homogene Haufen derselben Substanzen der Streifen bestehen. Von den Haufen gehen, ähnlich den vorigen, andere Streifen aus, welche, indem sie den übrigen Teil der Zona pellucida durchziehen, gegenüber dem Eidotter ausmünden. Daß die schwarzen Haufen aus denselben in den Streifen sich befindenden Stoffen aufgebaut sind, kann man bei Betrachtung der Streifen selbst beweisen, welche, wenn sie in der ganzen Dichtigkeit der Zona pellucida selbst isoliert sind, sich als aus einer Reihe von kleinen, winzigen Punkten zusammengesetzt ergeben, während dieselben von Strecke zu Strecke wegen Anhäufung oder Stockung von Körnchen erweitert erscheinen. Im Grunde sind diese Streifen nichts anderes als Übergangsströmungen der von der Granulose verarbeiteten Stoffe, d. h. Stoffe, die unter körniger oder myelinischer Form erscheinen und die charakteristisch für die Lecithine sind. Diese globuliformen Körperchen bestehen höchstwahrscheinlich aus den letzteren.

Daß die genannten Körnchen dazu bestimmt sind, den Dotter mit deutoplasmatischem Material zu bereichern, kann man nicht nur aus der identischen Konstitution der unter den schwarzen Haufen befindlichen Streifen, sondern auch aus der Tatsache entnehmen, daß sie unter der Zona pellucida anzutreffen sind, wie dieses mit Deutlichkeit aus der Fig. 23 ersichtlich. Die Figur stellt ein überernährtes Ei dar, welches im Begriffe steht, aus seinem Follikel auszuschlüpfen. In diesem hat sich ein perivitelliner Raum gebildet, der schwarze isolierte oder in Gruppen angeordnete Körnchen zeigt. Diese kommen von der Zona pellucida her. An einigen Stellen, wie dieselbe Fig. 23

zeigt, die einen stark vergrößerten Teil eines reifen Eies darstellt, ist es leicht zu beobachten, daß an der Ausmündung der Streifen noch Körnchen angehängt erscheinen, welche noch nicht ganz ausgetreten sind und im Begriff stehen, sich im perivitellinischem Raum frei zu machen. Unter den Bedingungen, wie sie von der in Rede stehenden Figur dargestellt werden, da das Ei bereits reif und vermittels der Lecithineinspritzungen überernährt ist, stellen die Körnchen ein Übermaß von deutoplasmatischem Material dar, welches das Ei nicht mehr in sich aufnimmt. Indem Regaud und Dubreuil die protoplasmatischen Brücken in Abrede stellen und zugeben, daß die Zona pellucida von Streifen durchsetzt ist, welche von der über ihr liegenden Schicht herstammt, beschreiben sie eine oberhalb des Eies frei in einem perivitellinischen Raume befindliche Membran, die sie epiovuläre gegitterte nennen und die eine Fortsetzung der Streifen darstellen soll. Diese vermeintliche Membran, die sich nicht immer beobachten läßt, stellt eigentlich nichts anderes als das durch die Zona pellucida an die Oberfläche des Eies angelangte und von letzterer freigemachte Material dar. Auch von Ebner wiedergibt in Köllikers „Handbuch der Histologie“ auf Seite 519 des zweiten Bandes Zeichnungen von den Streifen der Zona pellucida, die an der Basis zu einer Membran sich vereinigen, die von Regaud und Dubreuil mit der epiovulären für identisch gehalten wird. Aber die von Kölliker dargestellte Figur stellt meiner Ansicht nach ein durch die Fixationsmittel verändertes Ei vor, weil das Ei, wie soeben bemerkt, mit Flemmings Flüssigkeit behandelt worden ist. Letztere, in Verbindung mit Essigsäure, löst viele Substanzen der Zona pellucida, so daß man nur das Gerüst derselben zu Gesicht bekommt.

Was die Beziehungen der Zona pellucida mit dem Ovocyten und der Gegenwart eines perivitellinischen Raumes betrifft, der von einigen, wie Dubreuil, Nagel, Regaud zugegeben, von anderen abgeleugnet oder nur, wie von Ebner mit Vorbehalt zugestanden wurde, habe ich stets die Beobachtung gemacht, daß ein derartiger Raum vom Entwicklungszustande der ovulären Bildung und von ihrem Stoffwechsel abhängt. Bei Ovocyten mit ein- oder mehrschichtigem Follikel und sogar auch mit Bildung von Follikelflüssig-

keit, hängt in der Tat das Ovoplasma fest an der Zona pellucida an, damit die für die Ausbildung des Eies nötigen Substanzen leichter dorthin eindringen können. Eine derartige Verbindung ist im allgemeinen sehr innig, wenn die Zona pellucida reich an Material und der Stoffwechsel der eibildenden Tätigkeit sehr lebhaft ist, da ich nie die Losreißung des Ovoplasma in ähnlichen Fällen beobachten konnte, wie in Fig. 22 sichtbar ist. Im Gegenteil, eine derartige Abtrennung oder Lysis ist leichter zu beobachten, wenn nicht auf der ganzen, wenigstens auf einem Teil der ovoplasmatischen Oberfläche, besonders in dem Falle, daß die Nährsubstanzen in der Zona pellucida fehlen und der Stoffwechsel der Eierstöcke wenig lebhaft ist, wie beispielsweise in der Fastzeit und während der Trächtigkeit. Unter diesen Bedingungen wurden zwei Ovocyten und Zellen der Corona radiata mit der Zona pellucida in den folgenden Fig. 18 und 19 dargestellt.

Bei den reifen, überernährten und ihrem Ausschlüpfen aus dem Follikel nahestehenden Eiern ist dagegen der perivitelline Raum sehr deutlich und sehr reich an Körnchen. Letztere stellen den Überschuß des deutoplasmatischen, vom Dotter nicht aufgesogenen Materials dar.

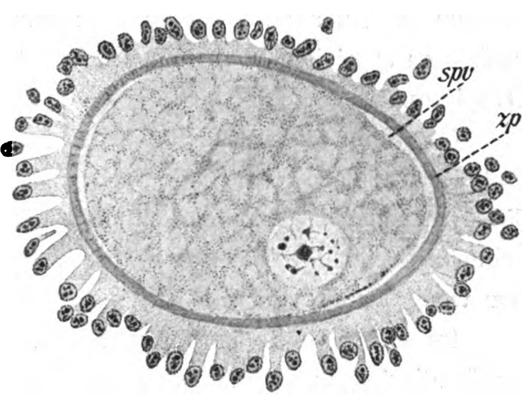


Fig. 18. Beinahe reifer Ovocyt eines fastenden nach 20 Tagen getöteten Kaninchens. Die Zellen der Eigranulosa sind atrophisch mit gewöhnlich kleinerem, d. h. geschrumpften Kern. Fixierung und Färbung wie Fig. 17. Zeiss Comp. Okul. 6. Obj. 0.3 mm.

Die oben erwähnten Charaktere der Zona pellucida wurden im allgemeinen von Eierstöcken aus überernährten Kaninchen entnommen und dargestellt Bei letzteren sind dieselben schätzenswerter, weil sie infolge des vorgenommenen Behandlungsverfahrens in prägnanter Weise erscheinen. Indessen ist die Zona pellucida bei Normalkaninchen je nach dem Alter und der Trächtig-

keit von der Gebärmutter verschiedenartig gebildet und geformt. Dasselbe geschieht auch bei Kaninchen, die unter besonderen Bedingungen, wie Fasten und Überernährung mit Lecithineinspritzungen, gehalten werden.

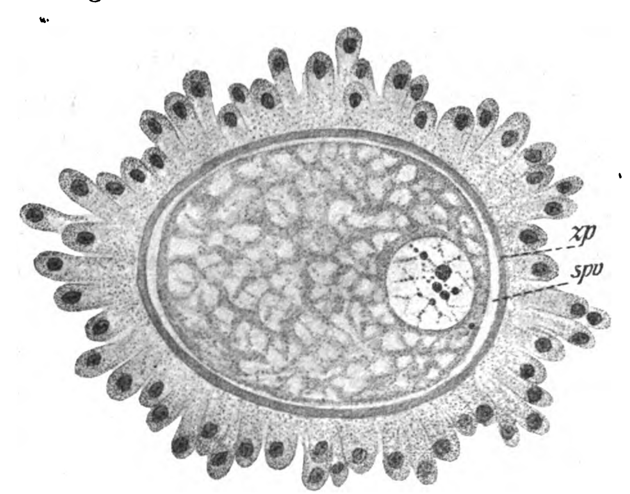


Fig. 19. Ovocyt mit stark entwickeltem Follikel, in dem eine folliculäre Höhle sich entwickelt hat. Von einem Kaninchen, welches zu gebären beinahe im Begriffe war. Vergr. wie oben.

Man kann im allgemeinen annehmen, daß die Zona pellucida dem Stoffwechselspiel des gesamten ovulären Bildungsprozesses folgt, weil sie je nach dem Zustande des Tieres entweder reich an Nährstoffen ist oder derselben entbehrt. Sie wechselt auch von einem zum anderen Ei in dem einen und selben Eierstock, je nach dem speziellen Verhalten oder Zustande der Granulose und des Ovoplasma.

Man kann indessen Fälle beobachten, bei denen das Ovoplasma und die Granulose reich an deutoplasmatischem Material sind, während die Zona pellucida desselben entbehrt, oder Fälle, bei denen die Zonae pellucidae reich an Material, während das Ovoplasma gar nicht oder nur wenig damit versehen ist.

Im ersten Falle ist anzunehmen, daß die in Rede stehenden Stoffe alle insgesamt in das Ovoplasma übergegangen sind, welches noch nicht damit g e s ä t t i g t ist und daher nicht gestattet, daß dieselben in der Z o n a p e l l u c i d a sich festsetzen. Wie die Fig. 20 zeigt, lassen sich nur die Diffusionsströme derjenigen Stoffe beobachten, die von der Granulose herkommen, weil die chromatischen Körper noch nicht den ganzen Dotter eingenommen haben und nur an der Peripherie der Zona pellucida beschränkt sind.

Im zweiten Falle ist anzunehmen, daß in der Zona pellucida eine Stauung der Nährstoffe stattgefunden hat und daß in der weiteren

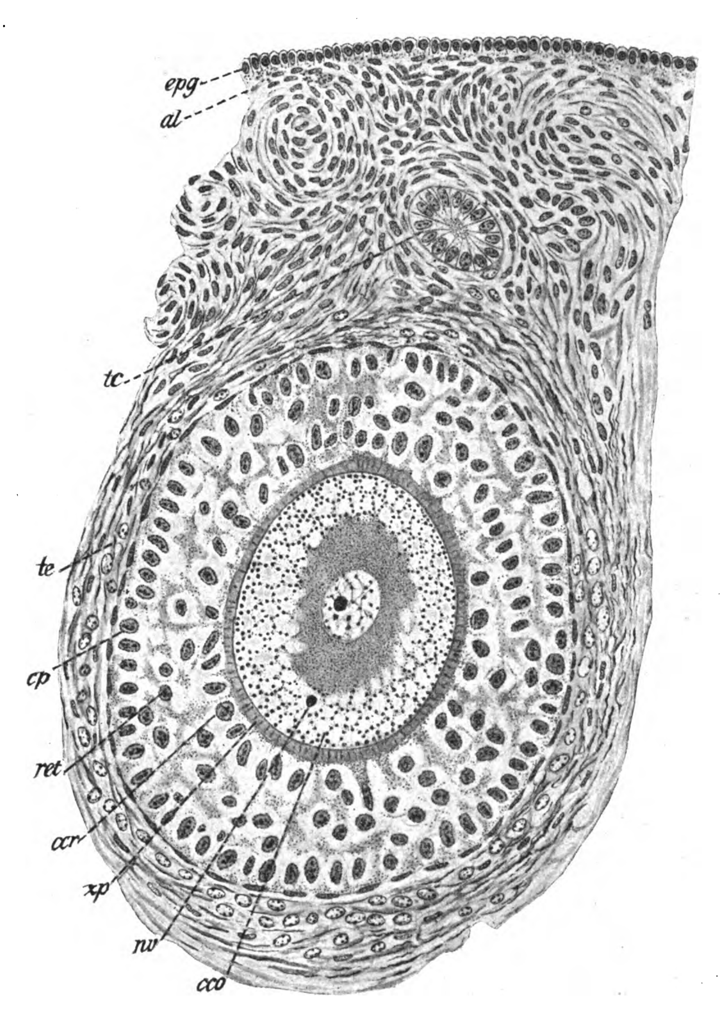


Fig. 20. Ovocyt mit vielschichtigem Follikel von einem wiederholt mit Lecithinlösung eingespritzten Kaninchen. Die Zona pellucida (*zp*) veranschaulicht die Diffusionsströmungen. Der Eidotter ist an seiner Peripherie, wo man auch noch den Dotterkern sehen kann, reich an chromatischen (*cco*) Körpern. *ccr* Zellen der Corona radiata; *cp* Parietalzellen; *tc* Corticalröhren; *al* Albuginea; *epg* Keimepithel; *te* Theca folliculi; *ret* Retinacula. Fixierung mit Sublimat. Färbung mit Eisenhämatoxylin. Zeiss Comp. Okul. 6. Obj. 3.0 mm.

Entwicklung der Ovocyten dieselben ganz oder teilweise in den Dotter übergehen werden.

In allen Fällen jedoch, wenn der Dotter gleichsam mit derartigen spezifischen Materialien gesättigt ist, die nach den von mir erhaltenen experimentellen Ergebnissen nur nützlich sind, um der Entwicklung des Embryo eine spezielle Richtung zu geben, verbleiben die genannten Materialien in der Zona pellucida. Diese zeigt sich mitunter selbst in Eiern, die im Begriffe stehen, aus dem Follikel zu treten, im ganzen oder teilweise mit der charakteristischen schwarzen Färbung, wenn die Schnitte mit Heidenhains Hämatoxylin behandelt worden sind. Dieses Material, da die Zona pellucida das Ei bis in die Gebärmutter begleitet, muß nach Van Benedens Beobachtungen bei den Chiropteren und nach Reins beim Kaninchen und Schwein sowie nach anderen Erfahrungen an den Erscheinungen teilnehmen, welche die primordiale Ernährung des Embryo betreffen, währenddem nach Paladinos Auffassungsweise letztere auf Kosten der Decidualneubildung sich vollziehen würde, welche die Reservestoffe des Nahrungsdotters ersetzt und die in den Eiern der Säugetiere fehlt.

Was Paladino über diesen Gegenstand festgestellt hat, gestattet ohne weiteres anzunehmen, und zwar infolge der oben auseinander gesetzten Tatsachen, daß die Zona pellucida nicht bloß eine Schutzmembran für das Ei und eine Vermittlerin für die in der Granulose verarbeiteten Stoffe ist, sondern unter besonderen Bedingungen auch eine Niederlagsstätte von Deutoplasma ist, welches das Ei bis in die Gebärmutter begleitet, indem es zum Teil für die Ernährung des Embryo in den ersten Zeiten seiner Entwicklung sorgt und so mit seiner Gegenwart beiträgt, einen besonderen Entwicklungsimpuls für den ontogenetischen Prozeß zu geben.

Auch E. Emrys-Roberts gibt zu, daß die sogen. Dotterkörnchen oder Jolk-Granules nicht hinlänglich imstande wären, für die Entwickelung des Embryo in den ersten Tagen zu sorgen und daß der Kontakt mit dem mütterlichen Gewebe 5—6 Tage nach dem Eintreten des Eies in die Tube oder Gebärmutter zu Stande käme.

In betreff des verschiedenen Anteils der Nährstoffe bei dem Aufbau der Zona pellucida, welche, nach vorhergehender Fixierung mit Sublimat, wegen ihrer schwarzen Färbung mit Eisenhämatoxylin

sich bemerkbar machen, kann man annehmen: 1. daß in jungen (4 bis 5 Monate alten) Kaninchen, welche vor Erreichung der Brunstzeit getötet wurden, die Zona pellucida aus der alleinigen Grundsubstanz zusammengesetzt ist, die, wie schon früher bemerkt, mit Eisenhämatoxylin sich gelblich färbt; 2. wenn die Kaninchen die Brunstzeit erreicht haben, ist bloß die Zona pellucida einiger Eier, wegen Anhäufung von spezifischen Substanzen, stark schwarz gefärbt. Ein anderer Teil der Eier hat eine klare Zona pellucida mit wenigen schwärzlichen Strahlungen, welche ein Anzeichen des Durchtrittes der wenigen verarbeiteten Stoffe der Granulose bilden. Diese zwei Typen der Zona pellucida entsprechen, wie schon für die Granulose gesagt und wie dies für die deutoplasmatischen Stoffe des Dotters näher erörtert sein wird, zwei verschiedene Typen des Stoffwechsels bei der Eibildung; 3. bei im Trächtigkeitszustande getöteten Kaninchen entbehrt die Zona pellucida auch der Stoffe, die sich mit Eisenhämatoxylin schwarz färben; 4. ebenso bemerkt man diese zwei Typen in allen Zonen von Eiern fastender Kaninchen; 5. bei den mit Lecithineinspritzungen überernährten Kaninchen zeigt sich die Zona pellucida sämtlicher Eier sehr stark gefärbt wegen Anhäufung der genannten Stoffe, welche die Grundsubstanz verdecken oder verschleiern.

Eine Frage, welche im nächsten Kapitel eingehender behandelt werden soll, ist zu erörtern, welcher Natur die Nährstoffe der Zona pellucida sind, ob dieselben hinsichtlich der angewendeten Reagenzmittel acido- oder basophile sind und ob in der Zona pellucida diejenige Umwandlung vor sich gehen kann, welche zur Bildung der Deutoleciten führen, wie dies im Eidotter der Fall ist. Hinsichtlich der angewendeten spezifischen Fixierung, Färbung und auch wohl der Tatsache, daß im Eidotter die basophilen (Mitochondrien und Chondromiten) in acidophile Substanzen sich verwandeln, um die deutoplasmatischen Körper zu bilden, darf man wohl behaupten, daß in der Zona pellucida ebenfalls eine derartige Umänderung stattfindet. Deswegen ist die Zona pellucida unter gewissen Bedingungen eine wahre Deutoplasmaniederlage. In der Tat, bei Fixierung mit Bendas Flüssigkeit und bei Färbung mit Eisenhämatoxylin, welche beide spezifische Reagenzmittel sind, um die basophilen Bildungen und Ge-

bilde im Protoplasma festzustellen, bekommt man höchst selten die gewöhnliche stark schwarze Färbung mittels der Sublimatfixierung, besonders in überernährten Eiern. Statt dessen gewahrt man in der Zona pellucida fast immer Radiärlinien oder genauer ausgedrückt Diffusionsströme, die aus denkbar kleinen, winzigen Punkten bestehen. Letztere entsprechen wegen ihrer Reaktionsweise den basophilen Körpern, die später den acidophilen Körpern oder dem definitiven Deutoplasma Ursprung geben. Wenn man nunmehr die Beobachtung über die zwei oben erwähnten Methoden der Färbung und Fixierung vervollständigt, so kann man annehmen, daß die Nährstoffe, welche bis zur Zona pellucida vordringen, um in den Eidotter zu gelangen, ursprünglich basophil sind. Wenn diese basophilen Stoffe in reichlicher Menge vorhanden sind, können sie in der Zona pellucida selbst acidophil werden. In Anbetracht dieser Tatsachen wird man den wahren Wert der Zona pellucida besser begreifen können. Indem diese in gewissen Spezialfällen eine Ergänzung zum Deutoplasma, welches das Ei bis in die Gebärmutter begleitet, bildet, übt sie ihren Einfluß auf diejenigen Prozesse, welche im befruchteten Ei sich vollziehen, wie dies bereits im I. Teil dieser Arbeit erwähnt wurde.

Literatur.

Crety, C., Contribuzione alla conoscenza dell' ovario dei Chirotteri. Ricerche del Labor. di Anatomia normale. Roma. 1893.

Ebner, von V., Über das Verhalten der Zona pellucida zum Ei. Anat. Anzeiger. 1900.

Ders., Köllikers Handbuch der Gewebelehre des Menschen. Zweite Hälfte. Leipzig. 1900.

Emrys-Roberts, E., A preliminary Note upon the question of the nutrition of the early Embryo, whit special reference to the Guinea Pig and Man. Proceedings of the Royal Society. London. 1905.

Flemming, W., Zellsubstanz, Kern- und Zellteilung. Leipzig. 1882.

Heape, W., The Development of the Mole. The ovarian Ovum. Quarterly Journal of microscopial Science. 1886.

Ders., Ovulation and Regeneration of Ova in the Rabbit. Proceedings of the Royal Society. London. 1905.

Nagel, W., Das menschliche Ei. Arch. mikroskop. Anat. 1888.

Paladino, G., I ponti intercellulari tra l'uovo ovarico e le cellule follicolari e la formazione della Zona pellucida. Anatomischer Anzeiger. 1890.

Ders., Istituzioni di Fisiologia. Napoli. 1904.

Pflüger, E. F., Über die Eierstöcke der Säugetiere und des Menschen. Leipzig. 1863.

Rein, G., Beiträge zur Kenntnis der Reifungserscheinungen und Befruchtungsvorgänge am Säugetierei. Archiv mikroskop. Anat. 1883.

Regaud, Cl. et Dubreuil, La constitution de la Zone pellucide et les rélations de l'épithélium folliculaire avec l'ovule dans l'ovaire du Lapin. Compt. rend. de l'Association des Anatomistes. 1905.

Retzius, Gustav, Die Intercellularbrücken des Eierstockeies und die Follikelzellen sowie über die Entwicklung der Zona pellucida. Verhandlungen Anat. Anzeiger. 1889.

Russo, Achille, Prime ricerche dirette a determinare la permeabilitá e la struttura istochimica della Zona pellucida nei Mammiferi. Bollettino Accad. Gioenia di Scienze naturali. Catania. 1906.

Sobotta, J., Über die Bildung des Corpus luteum bei der Maus. Arch. mikroskop. Anat. 1896.

Van Beneden, E., Recherches sur la composition et la signification de l'oeuf basées sur l'étude de son mode de formation et des premiers phénomènes embryonaires. Mémoire couronné de l'Académie de Belgique. Bruxelles. 1870.

Ders., Contribution à la connaissance de l'Ovaire des Mammifères. Archives de Biologie. Paris. 1880.

Ders., Observations sur la maturation, la fécondation et la ségmentation de l'oeuf chez les Chiroptères. Ibidem. Paris. 1880.

Waldeyer, W., Die Geschlechtszellen, in Oskar Hertwigs Handbuch der vergleich. und experiment. Entwicklung der Wirbeltiere. Gustav Fischer, Jena. 1903.

Die chromatischen Körper des Ovoplasma, ihre experimentelle Erzeugung und Zerstörung, sowie ihre Bedeutung bei der geschlechtlichen Differenzierung der Eier.

Die in diesem Kapitel auseinanderzusetzenden Tatsachen sind sehr wichtig, um den Zweck der gegenwärtigen Untersuchungen klarzulegen, und zwar weil sie dartun, daß 1. das Ei durch äußere Einflüsse künstlich modifiziert werden kann, 2. weil sie zum erstenmal ins Klare setzen, daß auch bei den Säugetieren zwei Sorten von Eiern unterschieden werden können, die von einem speziellen Stoffwechsel gekennzeichnet sind. Das Endergebnis eines derartigen Typus von Stoffwechsel ist die An- oder Abwesenheit derjenigen deutoplasmatischen Stoffe, die sich in Form von chromatischen Körpern offenbaren, deren Abkunft und Beschaffenheit deswegen eine nennenswerte Bedeutung bei diesen Untersuchungen besitzen. Verschieden sind die färbbaren Körper, die im Eidotter des Kaninchens vorkommen. Einige sehr kleine und körniger Beschaffenheit, die man im ersten Stadium des Ovocyten beobachten kann, zeigen sich

vornehmlich bei Anwendung besonderer Methoden sehr gut, wie die Konservierung mittels Bendas Methode und darauffolgender Färbung mit Kristallviolett Bendas oder mit Eisenhämatoxylin und mit den basischen Farbstoffen im allgemeinen. Andere Körper dagegen, von größer und myelinischer Form, erscheinen bei vorgeschrittener Entwicklung des Ovocyten und färben sich hauptsächlich mit den plasmatischen und sauren Farbstoffen.

1. Acidophile chromatische Körper von myelinischer Struktur.

Ich werde zuerst über die acidophilen chromatischen Körper sprechen, welche myelinische Form besitzen und die normalerweise im Dotter einiger Eier sich befinden, wie man dies mittels verschiedener Färbungsmethoden beweisen kann. Derartige Körper erhalten tatsächlich mit der Ehrlich-Biondi-Heidenhainschen Mischung eine stark rote Färbung, hervorgerufen durch das saure Fuchsin. Mit dem Heidenhainschen Eisenhämatoxylin färben sie sich schwarz, währenddem sie mit dem Zinnmolybdat die charakteristische Blaufärbung annehmen, die durch die Gegenwart des Phosphors hervorgerufen wird.

Bei Anwendung der Bendaschen Fixierflüssigkeit und des von diesem Autor befolgten Färbverfahren erscheinen die chromatischen Körper, wie die Zellkerne, rosagefärbt. Diese Reaktion stellt ein geeignetes Mittel dar, um diese Körper von den übrigen Granulationen des Protoplasmas zu unterscheiden, die sich violett färben und sich mit dem mitochondrialen Netz zusammen bilden. Nach diesem Verfahren erscheinen die acidophilen Körper nicht nur in allen Eiern mit weiten interepithelialen Räumen oder mit weiter Follikularhöhle, sondern auch in vielen kleinen Eiern durch ein drei- oder mehrschichtiges Follikel umgeben.

Sind derartige Körner in nicht ganz reifen Eiern vorhanden, so ist bei dem vorwiegend anabolischen und bildungsfähigen Charakter des Eies daraus zu entnehmen, daß sich dieses in den besten Bedingungen seiner normalen Entwicklung befindet. Das beweist auch der üppige Zustand der Nebenapparate des Eies, wie z. B. die an deutoplasmatischem Material reiche Zona pellucida und die Zellen der

Parietal-, sowohl als der Ovulargranulose, die ihre charakteristische Funktion saugender und sezernierender Zellen üben.

Die acidophilen Körner sind häufiger zu beobachten, wenn der Metabolismus der Tiere durch Behandlung mit Lecithin erhöht wird.

In einigen reifen oder fast reifen Eiern fehlen die sonst auf dem protoplasmatischen Netz regelmäßig verteilten acidophilen Körner. In diesem Fall zeigen die Eier keinen energischen Metabolismus, was übrigens auch die an schon gebildeten deutoplasmatischen Materialien arme Zone pellucida und die wenig sezernierenden Granulosezellen beweisen.

In einigen fast reifen, die deutoplasmatischen Körner entbehrenden Eiern geht die Wandgranulose, nach vielen Anzeichen, der Entartung entgegen. Letztere ist von der nicht verschieden, die einige Kaninchenweibchen beim Beginn ihrer Fastenzeit aufweisen, wobei einige Zellen der Wandgranulose eine deutliche Kernchromolyse erfahren[1]).

Ein derartiger Parallellismus zwischen dem normalen Zustande einiger Eier und den Eiern fastender Kaninchen beweist, daß der Metabolismus einiger Eier normalerweise wenig energisch ist, daß er ferner die Annahme gestatten würde, daß die Eier und ihre Nebenapparate nach ihrer maximalen Entwicklung allmählich untergehen und nur durch ihre Reservematerialien ihre weitere Entwicklung versorgen.

Von dieser Deutung abgesehen, lassen sich immer zwei Typen von Eiern unterscheiden (vgl. Fig. 21): die einen mit deutoplasmatischen Körnern und mit energischem Metabolismus (♀ Eier); die anderen ohne deutoplasmatische Materialien, mit wenig energischem Metabolismus und nur mit dem mitochondrialen Netz versehen (♂ Eier). Sollten letztere, mit den Zellen ihrer Wandgranulose in Entartung begriffenen Eier nach ihrer Trennung vom Eierstocke befruchtet werden, so würden sie sich als Elemente verhalten, die den höchsten Punkt ihrer normalen Entwicklung erreichten und nunmehr ihre regressive Bahn verlaufen oder sich nach R. Hertwig als „überreife"

1) Die weitere Entartung führt zur Atresie und zur Bildung von gelben Körpern, so daß es nötig ist, eine Grenze zwischen dem normalen und dem degenerativen Prozeß zu bestimmen. Es wäre auch nötig festzustellen, ob derartige Eier in die Tube fallen, um befruchtet zu werden.

Eier erhalten. Die geschlechtliche Bestimmung würde demnach von dem Zustand abhängig sein, in dem sich die reifen Eier in der Zeit der Begattung sich befinden.

Die Natur des Bildungsprozesses der globuliformen deutolecithischen Körperchen im Eidotter wird später besser auseinandergesetzt werden. Man muß indessen betonen, daß auch in der Zona pellucida, wenn die abgelagerten Stoffe äußerst reichlich vorhanden

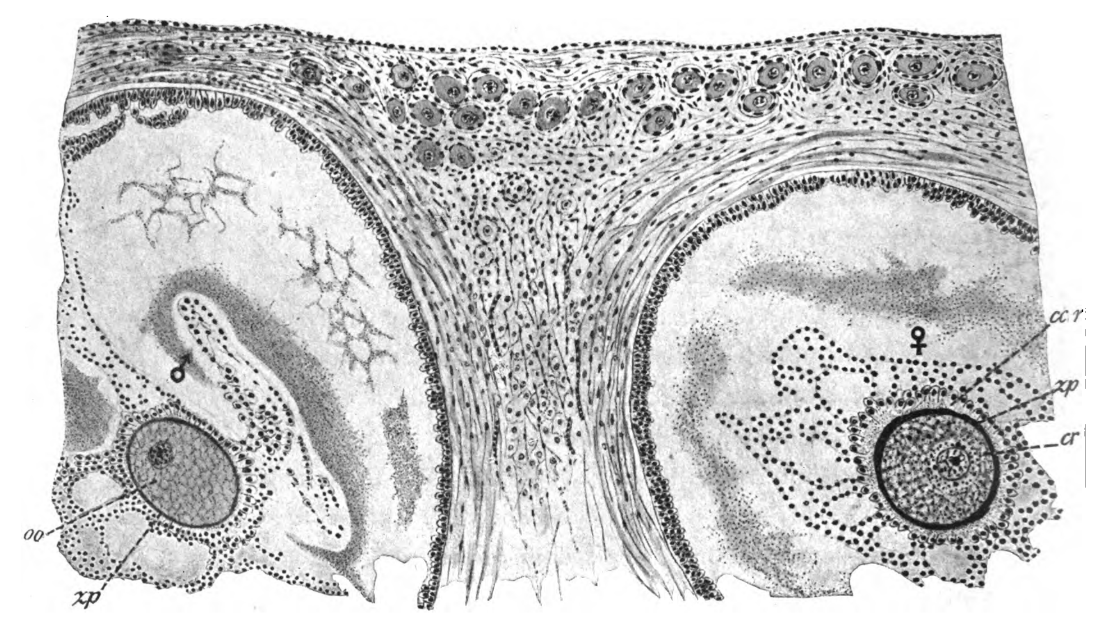


Fig. 21. Rindenportion vom Eierstock eines brünstigen Normalkaninchens. Man sieht zwei Follikel in beinahe vollständiger Entwicklung. Der rechte von diesen enthält ein Ei mit Zona pellucida (*zp*), reich an Nährmaterialien, Eidotter mit myelinischen Körpern (*cr*) besät, mit besonders entwickelten Zellen der Corona radiata (*ccr*). Das zweite Ei ist aller dieser Gebilde bar. Das erste Ei ist ein Weibchen gebendes, das zweite ein Männchen lieferndes. Zeiss Ok. 6. Obj. 160 mm. Fixierung mit Sublimatfärbung mit Eisenhämatoxylin. Hier im verkleinerten Bilde wiedergegeben.

sind, die Umwandlung der baso- in acidophile Körper sich vollziehen kann, weswegen diese letzteren, die ja das Deutoplasma bilden, direkt in den Eidotter übergehen.

2. Kristalloide Körper.

Einige acidophile chromatische Körper sind von länglicher Form mit parallelen Seiten- und rundlichen Endflächen, ähnlich den Kris-

talloiden, welche bei verschiedenen Tierzellen beschrieben wurden. Prenant beobachtete diese Kristalloide auch in der Thymusdrüse des Chamäleon und im Kern der Sympathikuszellen des Igels. Reincke sah sie auch in den Interstitialzellen des Hodens dieses Tieres. In den Eiern wurden von anderen Forschern in verschiedenen Arten von niederen Tieren und Säugetieren, von Ebner beim Reh, von Wagner beim Hund und von Holl in der Maus beobachtet. Die letzteren zwei Forscher sahen sie aber auch in entarteten Eiern und, laut Wagner, sollen dieselben Kalkkarbonat enthalten. Die Gegen-

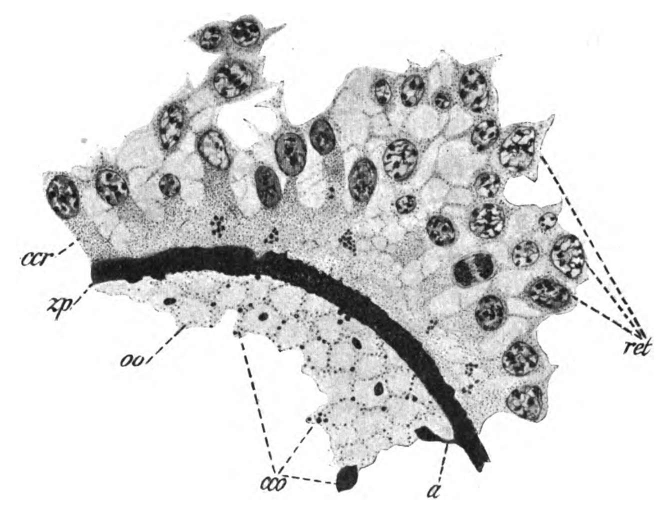


Fig. 22. Teil eines Ovocyten bei übertriebenem Metabolismus, wie in Fig. 17. Die Zona pellucida (*zp*) ist reich an Nährmaterial, welches in den Eidotter eindringt, wie man es in *a* sieht, wo ein chromatischer Körper noch vermittels eines Fußes an die Zona pellucida gebunden ist. Das Dotternetz ist reich an chromatischen Körpern (*cco*) verschiedener Größe. Die Zellen der Corona radiata (*ccr*) anastomosieren mit den Retinaculis (*ret*). Zeiss-Vergrößerung wie in Fig. 17.

wart von Kristalloiden wurde bereits von Limon im Dotter der Kanincheneier beobachtet. Die Kristalloide beobachtet man nicht in allen Eiern oder in sämtlichen Eierstöcken, und wenn man zufällig etwa diesen begegnet, sind sie meistens in Begleitung von anderen Einschlüssen von nicht kristallinischer Form vorhanden, aber immerhin von ovulärer oder länglicher Gestalt, was ein Zeichen gestörten Metabolismus ist. Die zur Bildung der Kristalloide nötigen Stoffe kommen nach meiner Meinung in flüssiger Form vor, und eben diese flüssigen Stoffe sind es, meiner Meinung nach, welche zur Bildung

der Cristalloide beitragen sollen, wenn die Stellen, an welchen sie sich niederschlagen, den richtigen Sättigungsgrad erreicht haben. Dann und wann ist der Eidotter nur mit allerkleinsten Kristalloiden von gleicher Dimension versehen, die sich alle nur an der Peripherie des Eies ansammeln. Manchmal beobachtet man, daß auch die sehr großen Globüle von außen herkommen (vgl. Fig. 21). Nach meiner Meinung bilden sich die nadelförmigen Kristalloide unter der Wirkung besonderer, Sublimat enthaltenden Fixiermittel. Bendas Flüssigkeit ruft sie aber nicht hervor.

3. Experimentelle Wiedererzeugung und Zerstörung der acidophilen Körper.

Wie ich es in den vorhergehenden Kapiteln auseinandergesetzt habe, verspüren die deutoplasmatischen Körper mit myelinischer Struktur, die normalerweise im Dotter vorkommen, noch den Einfluß der verschiedenen Funktionszustände des Organismus, mögen dieselben natürlicher oder künstlicher Natur sein, in welch letzterem Falle dieselben nach Belieben verschwinden oder sich vermehren können. In bezug auf die Gegenwart derartiger Körper bei Normalbedingungen des Kaninchenorganismus, so konnte es bisher angenommen und festgestellt werden, daß a) bei kleinen Kaninchen von 2—5 Monaten oder bei solchen, welche noch nicht die Brunstzeit erreicht haben, die chromatischen Körper im Eidotter fehlen, mögen die Eier in jedem beliebigen Entwicklungszustande sich befinden; daß b) bei Kaninchen in der Brunstzeit nicht alle beinahe reifen Eier die nämlichen Charaktere besitzen, weil das Eidotter in einigen Eiern voll von acidophilen chromatischen Körpern ist, während letztere in anderen Eiern vollständig fehlen; daß c) die chromatischen Körper in den Eiern während der Trächtigkeit fehlen, welche letztere man auch als einen natürlichen oder physiologischen Zustand des Organismus auffassen kann. Behufs Studiums der deutoplamastischen Körper in einer solchen Periode wurden mehrere trächtige Kaninchen geopfert und von diesen eines 20 Tage nach der Begattung, wobei man gelegentlich 5 Embryonen im vorgerückterem Alter beziehungsweise Entwicklung vorfand und ferner ein Feldkaninchen (Garenne) kaum vom Lande herein-

gebracht, welches seit wenigen Tagen trächtig war und 3 Embryonen von ungefähr 3 cm Länge trug. In sämtlichen Fällen war nicht bloß die Zona pellucida wenig oder gar nicht gefärbt, sondern auch die Eidotter ganz und gar frei von chromatischen Körpern, wie man dies auch ganz gut in Fig. 19 sehen kann. Dieses beweist, daß während der Trächtigkeit, wenn man die Berieselung der Eierstöcke vermindert, so werden die oben genannten chromatischen Körper zerstört, um wahrscheinlich dem Eidotter zugute zu kommen. Das verschiedene Verhalten der myelinischen Körper bei den in verschiedenen Zuständen geopferten Kaninchen wurde in der Weise geforscht, daß die Eierstöcke mit Sublimat fixiert und mit Eisenhämatoxylin gefärbt wurden.

Als künstliche Bedingungen für den Organismus, kann man das Fasten bezw. die Überernährung, welche durch Lecithineinspritzungen hervorgerufen wird, ansehen:

a) während des Fastens schwinden die chromatischen Körper vollständig (vergl. Fig. 18), besonders bei Verlängerung desselben, wie dies bei verschiedenen Kaninchen, welche nach 15—20 Tagen getötet worden waren, beobachtet wurde und denen zwei tägliche Grünfütterungen von 50 Gramm gegeben wurden, wobei dieselben in den letzten Versuchstagen noch, in kleinere Rationen verteilt, vermindert bezw. reduziert wurden.

b) Um festzustellen, daß die acidophilen deutoplasmatischen Körper sich im Eidotter infolge von Lecithineinspritzungen vermehren oder daß dieselben sich dort von neuem bilden, wo sie vorher nicht vorhanden waren, habe ich verschiedene Experimente angestellt, indem ich mich hauptsächlich von 2, 3—4 Monate alten Kaninchen bediente, bei welchen, wie oben erwähnt, diese Körper normalerweise nicht vorkommen. Die Eierstöcke wurden mit Sublimat fixiert und mit Eisenhämatoxylin gefärbt. Die Einspritzungen wurden bald subkutan, bald ausschließlich endoperitoneal oder auch beide zugleich bei den nämlichen Tierindividuen vorgenommen und zwar zu dem Zwecke, genau festzustellen, welche dieser Methoden die wirksamste wäre. Wiewohl die so behandelten Tiere zahlreich waren, so teile ich hier, der Einfachheit wegen, nur einige Fälle mit, die als typisch gelten.

A. 2—3 Monate alten Kaninchen, welche am 20. Juli in das Laboratorium gebracht, wurden die folgenden Subkutaninjektionen von 4 ccm konzentrierter Lecithinlösung (mit Vaselinöl) am 22., 24., 28. und 31. Juli gemacht und am 3. August l. J. getötet. Bei Durchmusterung der mikroskopischen Schnitte derselben war der Eidotter mit chromatischen Körpern von myelinischer Form besät. Diese waren alle unter sich gleich und von mittlerer Größe; nur die Zona pellucida war dabei ganz frei von derartigen Gebilden.

B. Kleine 4—5 Monate alte Kaninchen, von denen einige als Kontrolltiere belassen wurden, bekamen subkutane Lecithineinspritzungen.

Während bei den ersteren der Eidotter vollständig von chromatischen Körpern frei war, zeigten dagegen die anderen bedeutende Partikularitäten. In den kleinen Ovocyten, versehen mit einschichtigen von kubischen Zellen bedeckten Follikeln, sieht man sehr deutlich, daß im peripherischen Eidotter Körper vorhanden sind, die sich stark schwarz färben, wie vergleichsweise in Fig. 16. Dieselben bestehen aus winzigen Körnern, welche fadenähnlich verteilt sind und von einem Zentralpunkt auslaufen. In größeren Ovocyten mit stratifiziertem Follikel, sind die chromatischen Körper auf der ganzen Oberfläche des Eidotters verteilt und nehmen bald eine rundliche, bald eine fadenförmige Gestalt an.

In diesem letzteren Falle wurden Einspritzungen von 5 ccm einer konzentrierten Lecithinlösung am 24., 26., 28. und 31. Oktober gemacht. Die Kaninchen wurden am 3. November getötet. Da diese Behandlungsweise nur kurze Zeit gedauert hatte, so gelangten sämtliche in den Organismus eingeführten Nährstoffe in den Eidotter, so daß die Zona pellucida meistens frei von diesen sich erwies.

C. Die nämlichen Tatsachen, aber in deutlicherem Maße, findet man bei älteren Kaninchen, denen man häufig endoperitoneale und subkutane Einspritzungen gemacht hatte. Ich nehme als Typus derselben ein über ein Jahr altes Kaninchen, welches schon öfters Junge geworfen hatte und seit einigen Monaten ohne Begattung geblieben war. Diesem Tier wurden eine erste Reihe von 5 subkutanen Einspritzungen von Lecithin und eine zweite Reihe von endoperitonealen Injektionen mit abwechselnd subkutanen der gleichen Substanz gemacht wie folgt:

Subkutane Einspritzungen:			Abwechselnd subkutane und endoperitoneale Injektionen:		
Am 11.	Juli	2—5 ccm	Am 29.	Juli	2 ccm
„ 13.	„	5 „	„ 3.	August	3 ccm
„ 16.	„	5 „	„ 7.	„	2 „
„ 19.	„	5 „	„ 11.	„	3 „
„ 22.	„	5 „	„ 16.	„	2 „

Bei den Mikrotomschnitten der Eierstöcke bemerkte man, daß sämtliche Ovocyten acidophile globuliforme Körperchen in ungeheurer Menge enthielten, die von rundlicher Form und von gleichen Dimensionen waren, mochte das Entwicklungsstadium des Ovocyten sein, was es wollte.

In Ovocyten mittlerer Größe und mit mehrschichtigem Follikel ist der Eidotter ebenfalls, so lange man dies in einigen Eiern von brünstigen Kaninchen beobachten kann, überall mit sehr stark gefärbten chromatischen Körpern gespickt versehen. Diese nehmen die Mitte der Gewebemaschen des Dotternetzes ein, laut Angabe der Fig. 20.

In den kleineren Ovocyten mit einschichtigem Follikelepithel (vgl. Fig. 16) erscheinen die globuliformen Körperchen selbst weniger gefärbt und überaus reichlich an der Peripherie des Eidotters verteilt, von wo aus einige Reihen, ähnlich Strömungen, gehen und endlich bis zum Keimbläschen hin gelangend, dasselbe sogar berühren. In den reifen Eiern, welche im Begriffe sind aus dem Follikel zu treten, wie deutlich dargestellt, ist der Eidotter, im Vergleich zu dem, was in einigen Eiern von gleichem Stadium brünstiger Kaninchen geschieht (vgl. Fig. 23), sehr intensiv gefärbt. In demselben Eidotter sind in größerer Menge chromatische Körnchen verschiedener Größe verteilt, unter denen einige größere besonders hervortreten und bei ihrer Verteilung dem Schema des Fundamentalnetzes folgen.

D. Bei Darreichung des Lecithins per os habe ich ähnliche Resultate erreicht und zugleich die Einspritzungen vermieden mit dem Vorteil, Entzündungen und Störungen im Organismus zu vermeiden, die bei nicht sorgfältiger Behandlung der Tiere oft vorkommen und den guten Erfolg der Experimente beeinträchtigen.

Das in einer 0,5 prozentigen Chlornatrium gelöste Lecithin wurde morgens in der Menge von 20—30 ccm mit Kleie gemischt vom 1. Dezember bis zum 28. Januar täglich dargereicht. In diesem Zeitraum wurden fünf subkutane Einspritzungen von 1—2 ccm Lecithin mit Vaselinölmischung am 20. und 23. Dezember, am 4., 10. und 24. Januar vorgenommen. Am 16. Januar wurde ferner eine ähnliche endoperitoneale Einspritzung ausgeführt. Die Durchmusterung der Eierstöcke

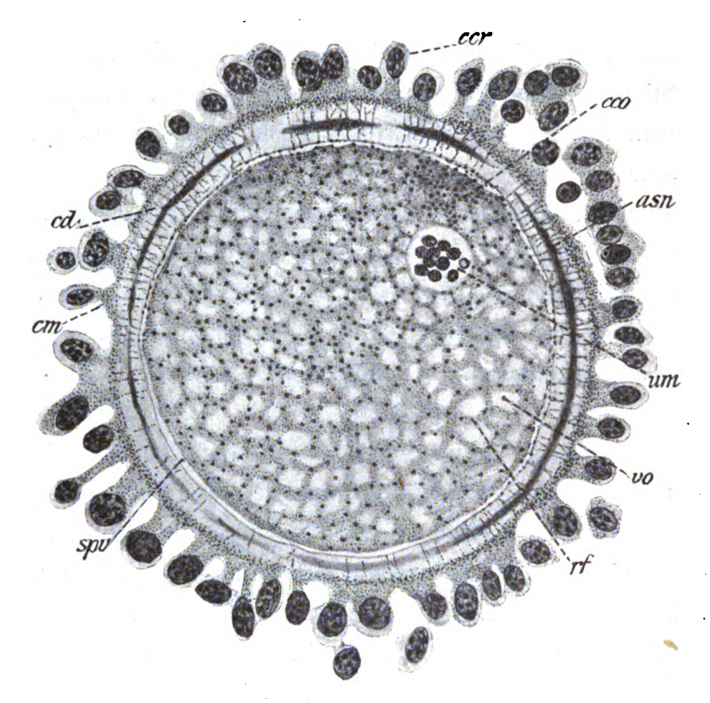


Fig. 23. Reifes, mittels Einspritzungen von Lecithinlösung künstlich überernährtes Ei. Ein Weibchen gebendes Ei. *cd* Körnchenströmungen in der Zona pellucida; *ccr* Coronalzellen; *cm* aus der Zona pellucida hervortretende Körnchen; *asn* Haufen von Nährmaterial in der Zona; *spv* perivitellinischer Raum; *rf* vitellinisches Netz; *vo* Vakuolen; *um* ♀ Pronucleus; *cco* acidophile Körnchen. Fixierung mit Sublimat. Färbung mit Eisenhämatoxilin. Zeiss Comp. Ok. Obj. 3.00 mm.

des am 28. Januar geopferten Kaninchens zeigte, wie im vorhergehenden Experimente, die Eier und die Zona pellucida reich an deutoplasmatischen acidophilen Körnchen.

E. Ähnliche Resultate wurden auch bei Darreichung per os während 1—2 Monate von 20—25 ccm Glyzerinphosphorsäure in einer 0,5 prozentigen Chlornatriumlösung erreicht.

4. Der mitochondriale Apparat und die Entstehung der acidophilen deutoplasmatischen globuliformen Körperchen.

Um die Analyse der im Eidotter auftretenden chromatischen Körper vervollständigen zu können, muß noch eine andere Frage berücksichtigt werden. Wie früher erwähnt, lassen sich auf Grund spezifischer Methoden der Konservierung und Färbung, wie z. B. bei der Behandlung kleiner Eierstöcke nach Bendas Verfahren und nach Färbung mit dem Kristallviolett im Ovoplasma violett gewordene Körnchen entdecken. Derartige, nach Angabe der Forscher eine basophile Reaktion besitzende Körnchen wurden von Benda „Mitochondrien" genannt, während dieselben bei reihenweiser Aufstellung als „Chondromiten" bezeichnet wurden.

In betreff ihrer Bedeutung für das Leben des Ovocyten sind die Deutungen verschieden; die meisten neigen aber zur Ansicht, daß dieselben mittel- oder unmittelbar an der Bildung des Deutoplasma tätigen Anteil nehmen. In betreff ihrer Herkunft ist man, meines Wissens wenigstens, bis heute zu keinem Endergebnis gekommen. Einige nehmen an, daß sie im Schoße des Eidotters, wegen einer ihr inhärierenden Aktivität, entstehen. Andere dagegen meinen, daß sie vom Kern abstammen, und zwar auf Grund ihrer Färbbarkeit.

In neuester Zeit ist aus der Schule von R. Hertwig eine Arbeit Popoffs erschienen, welche die diesbezügliche Frage näher ins Auge faßt. Dieser Autor meint nämlich nachgewiesen zu haben, daß aus den primitiven Ovocyten von Paludina vivipara im leptotenischen Stadium der Kerne ein Teil der chromatischen Substanz herkommt, der die Chromidien bildet und welcher ähnliche Bildungen darstellen soll, wie der von Richard Hertwig und später von Goldschmidt bei verschiedenen Protozoen beschriebene Chromidialapparat. Popoff glaubt jedoch nicht, daß derartige Chromidien direkten oder tätigen Anteil bei der Deutoplasmabildung nehmen, wiewohl er sagt: „ein Eingreifen der Chromidien in diesen Prozessen ist möglich". Daraus ergibt sich, daß zwischen Chromidien und Mitochondrien ein großer Unterschied besteht.

Um eine so kontroverse Frage zu entscheiden, habe ich versucht, festzustellen von der Tatsache ausgehend, daß die Kanincheneierstöcke

die Allgemeinbedingungen des ganzen Organismus widerspiegeln, ob die Mitochondrien des Eidotters schwinden oder infolge des Fastens oder einer Überernährung durch Verabreichung von Lecithin sich vermehren können. Wenn dies eingetroffen wäre, so wäre es kein Zweifel mehr, daß derartige Körper, ähnlich den acidophilen, deutoplasmatischen Körpern, sich infolge des eingespritzten Lecithins bilden. Die Verminderung dieser Körper während des Fastens könnte allein noch keine genügende Probe für eine solche Bejahung abgeben, da ja während des Hungerzustandes der Zellen, letztere von den in ihnen angesammelten Stoffen nutznießen könnten und sie mithin auf diese Art völlig schwinden. Die entgegengesetzte Probe ihrer Vermehrung bei der Überernährung soll indessen keinen Zweifel mehr über ihre Herkunft von außen übrig lassen.

Man könnte dieser Probe, die ich für eine direkte positive halte, entgegensetzen, daß das Lecithin indirekt anabolische Vorgänge im Ovocyten begünstigt, weswegen im Schoße des Eidotters Mitochondrien sich organisieren würden. Obwohl es durchaus nicht möglich ist, genau festzustellen, ob die Mitochondrien im fertigen Zustand von außen herkommen, so ist jedoch aus einigen Gründen anzunehmen, daß sich zur Bildung und Vermehrung dieser Gebilde die von außen gelangenden Materialien beteiligen. Diese Vermutung ist übrigens so weit zulässig, als die Zelle alle Wirkungen verspürt, denen sie ausgesetzt wird. Allein ist es schwer, bei der großen Anzahl der Zellen den Stoffwechsel genau zu verfolgen, der zwischen ihnen und dem Medium, in dem sie leben, stattfindet. Nur bei den Ovocyten kommen derartige Prozesse wegen der speziellen Funktion der Eizelle etwas besser zum Ausdruck. In der Tat, bei Durchmusterung vieler Präparate von normalen und überernährten Kanincheneierstöcken, die nach Bendas Konservierungsmethode hergestellt worden waren, beobachtete man immer, unabhängig vom jeweiligen Zustande der Ovocyten, vornehmlich aber bei den kleineren derselben, daß die Mitochondrien an der Peripherie des Eidotters gelegen sind und zwar unterhalb der follikulären Zellen fast in unmittelbarer Berührung mit denselben. In den von einer Zona pellucida umgebenen Ovocyten, die bereits einen vielschichtigen Follikel besitzen, gewahrt man noch andere

Eigentümlichkeiten an der Außenfläche des Eies, welche von außen die Herkunft der sich wie mitochondrische Körnchen des Ovocyten färbenden Materialien beweisen. In der Zona pellucida beobachtet man tatsächlich höchst feine strahlige Züge, welche durch die Reagentien als violett gewordene Körnchen auftreten und ähnlich den Dottermitochondrien aussehen. Derartige Körnchen kann man ebenfalls außerhalb der Zona pellucida sehen und zwar in den Follikularzellen in Berührung mit der Zona pellucida, wo sie diejenige Schicht bilden, welche Waldeyer die „äußere körnige Schicht" nannte (s. Fig. 24a u. 25).

In den nach längerem Fasten bis zur vollständigen Erschöpfung des Tieres, nach Bendas Methode fixierten Kanincheneierstöcken, sind die mitochondrischen Körnchen im Dotter der kleinen Ovocyten sehr bedeutend vermindert. Die Mitochondrien befinden sich nur noch an der Eidotterperipherie in Berührung mit den Follikularzellen, welche an der Basis globuliforme Körperchen zeigen. In den weiter entwickelten Ovocyten werden die Mitochondrien immer mehr unsichtbar oder im Falle, daß sie noch vorhanden sind, befinden sie sich an der Eidotterperipherie. In den Ovocyten, in denen eine Follikularflüssigkeit beginnt sich zu bilden, sind die protoplasmatischen Gebilde nur von wenigen Fäden mitochondrialer Körnchen vertreten, während die acidophilen, deutoplasmatischen Körperchen vollständig fehlen.

Wenn die Kaninchen drei oder vier Tage lang gefastet haben, lassen sich im Dotter aller Eier, auch in denen mit einschichtigem Follikel, deutoplasmatische, acidophile Körnchen beobachten. In derartigen Fällen verwandeln sich die Mitochondrien schon frühzeitig in acidophile Körnchen, um den herabgesetzten Stoffwechsel zu erhöhen.

Die mitochondrialen Körnchen finden sich bei zweischichtigem Follikel des Ovocyten in Reihen verteilt auf den Maschen des protoplasmatischen Netzes, welches die Vakuolen begrenzt und die das deutoplasmatische Flüssigkeitsmaterial enthalten. Eine derartige Anordnung und Verteilung ist, meiner Meinung nach, einfach mechanischer Art und von den Strömungen und aktiven Bewegungen des Protoplasmas abhängig.

In diesem Stadium, besonders aber in den am meisten entwickelten Ovocyten, verdicken die Chondromiten, indem sie sich immer an der Peripherie des Eidotters halten, an gewissen Stellen, um diejenigen

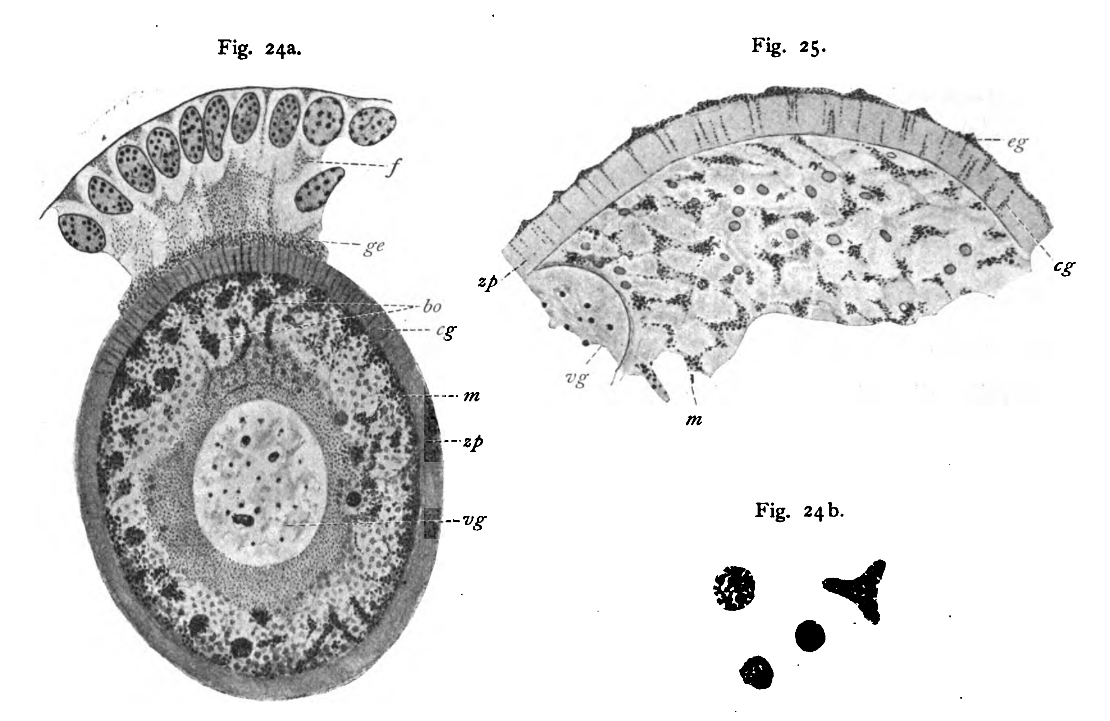


Fig. 24a, 24b, 25. Sämtliche Figuren stammen von Eierstöcken, welche mit Bendas Methode fixiert und mit Haidenhains Eisenhämatoxylin gefärbt wurden. Dieselbe Vergrößerung für sämtliche Figuren war Zeiss Comp. Okul. 6. Obj. hom. Imm. $^1/_{16}$.

Fig. 24a. Ovocyt mit zweischichtigem Follikel. Die Mitochondrien sind immer größtenteils an der Peripherie angehäuft. An einigen Stellen sind sie perlschnurförmig angeordnet und bilden so die Chondromiten. Diese vergrößern stellenweise, um Häufchen oder sogen. „boyaux vitellogènes" (*bo*) zu bilden. Die Zona pellucida (*zp*) zeigt Strahlungen (*cg*) von Körperchen (Mitochondrien?) gebildet, welche in der außerhalb der Zone liegenden Schicht (*ge*) ihren Anfang nehmen und sich mit den Mitochondrien verbinden, welche an der Peripherie des Eidotters gelegen sind. Normalkaninchen.

Fig. 24b. Anhäufungen von mitochondrialen Körnchen, deren einige schwarz (basophile) und andere grau (acidophile) aussehen. Dem oben dargestellten Ei entnommen und vergrößert.

Fig. 25. Ovocyt in beinahe vollständiger Entwicklung und mit gleichzeitig sehr entwickelter Follicularhöhle. Man bemerkt mitochondriale Perlschnüre (*cg*) mit acidophilen, deutoplasmatischen, globuliformen Körperchen. Die Zona pellucida (*zp*) zeigt die Körnchenströmungen. Von einem Kaninchen wie oben.

von van der Stricht als „boyaux vitellogènes" genannten Gebilde nachzuahmen. Letztere sind wirklich Stellen, auf welchen die auf experimentellem Wege wiedererzeugten deutoplasmatischen acidophilen

Körper sich bilden, die sich rotgelblich mit Kristallviolett und schwarz mit Eisenhämatoxylin färben. Manchmal ist zu beobachten, daß die Mitochondrialkörnchen, aus denen derartig beschaffene, verdickte Ansammlungen hervorgehen, sich nicht alle schwarz mit Bendas Methode und darauffolgender Eisenhämatoxylinfärbung färben. Einige derselben sind sogar ganz und gar farblos, andere von graulichem Ton, was der Vermutung Raum gibt, daß an diesen Stellen die chemische Transformation anfängt, wodurch die mitochondrialen Körnchen mit ursprünglich basischer Reaktion nunmehr acidophil werden. Diese acidophilen Körnchen, unter sich vereinigt stehend, bilden auch die deutoplasmatischen, globuliformen Körper.

Aus den bisherigen Auseinandersetzungen ergibt es sich in erster Linie, daß die basophilen Körper den Einfluß äußerer Agentien verspüren, die künstlich auf den Ovocyten wirken können. In zweiter Linie kann man behaupten, daß die basophilen mitochondrialen Körper die erste Stufe in der Bildung der anderen Körper mit acidophiler Reaktion und myelinischer Struktur darstellen, welche den wesentlichsten und wichtigsten Teil des Deutoplasma einiger Eier zusammensetzen. Da nun ein deutoplasmatisches Material, ähnlich dem der myelinischen Körper des Ooplasma, auch in der Zona pellucida auftreten kann, so wäre dies meiner Meinung nach noch ein Beweis, um die Annahme zu rechtfertigen, daß die basophilen Körper des Ooplasma (Mitochondrien) von denen der Zona pellucida und den anderen, die am äußeren Grund der Koronalzellen liegen, nicht gründlich verschieden sind.

5. Dotterkern.

Im Dotter der kleinen Ovocyten, die bereits von einem Follikel mit platten Zellen umgeben sind, tritt gewöhnlich ein rundlicher, von einem hellen Hofe umgebener Körper auf, der durch Form, Farbe und Größe sich von den anderen ovoplasmatischen schon beschriebenen Einschlüssen leicht unterscheiden läßt. Ein derartiger Körper scheint, zum Unterschied des von Winiwarter beschriebenen Idiozoms, seinen Ursprung in kleinen, im Wachstum begriffenen Ovocyten vermittels eines Überganges des Kernchromatins im Eidotter zu nehmen.

Das andere Eielement, welches der sogenannte Dotterkern ist, verbleibt im Ovocyten bis zu einem gewissen Stadium seiner Entwicklung und zwar so lange es zweischichtig ist, manchmal noch länger bezw. später.

In den Eiern mit vielschichtigen Follikeln, in denen der Liquor folliculi sich zu bilden anfängt, findet man keine Spur eines solchen Körpers mehr, so daß man annehmen muß, daß er, wenn der Ovocyt sich noch nicht ganz differenziert hat, bei denjenigen Prozessen des Zellstoffwechsels verwendet wird, welche vermöge eines Stoffaustausches zwischen Kern und Protoplasma vor sich gehen. Ein solch von dem Übergang des Kernchromatins in das Zellprotoplasma dargestellter Stoffwechsel tritt sehr deutlich in der Mehrzahl der Eier von anderen Tieren auf, wo mitunter eine perinukleare Zone sich vorfindet, welche augenfälligerweise von diesem Prozesse Zeugnis ablegt. Dieser Vorgang ist auch auf die Infusorien zu übertragen, wobei bei den verschiedenen Geschlechtsgenerationen eine cyklische Wiedererzeugung des Macronucleus stattfindet, welcher in der Folge sich fragmentiert, um für die vegetativen Erscheinungen des Lebens der Zellen fürsorgen zu können.

Es ist auch möglich, daß der Dotterkern, der sich so verschiedentlich bei den verschiedenen Tieren verhält, dem Chromidialapparat entspricht, der von Rich. Hertwig, Goldschmidt und Popoff beschrieben wurde; ferner daß alle diese Bildungen, die Beziehungen zum Kern haben, ihre Tätigkeit auf die Bildung des Deutoplasmas ausüben. Es ist deswegen in dieser Beziehung bemerkenswert, daß der Eidotter im Ovocyten der lecithinierten Kaninchen immer größer und auch stärker gefärbt ist, als dies bei Normalkaninchen und besonders bei denen während der Brunstzeit der Fall ist. Diese Tatsache würde demnach die Hypothese bestätigen, daß der Ovocyt vermöge des Austrittes des Kernchromatins, die Umwandlung der Stoffe, die von außen kommen, begünstigen würde, wie in den absorbierenden Drüsenzellen. Unabhängig davon ist die Tatsache experimentell nachgewiesen und auch früher auseinandergesetzt worden, daß in Kaninchenovocyten das ursprüngliche Material, welches die baso- und acidophilen chromatischen Körper bildet, die

als vom Dotterkern abstammend gehalten und auch Jolkmatrix geheißen wurden, von außen herkommt.

Über den Ursprung des Dotterkernes und über die ausgesprochenen Hypothesen hinsichtlich seiner funktionellen Bedeutung halte ich eine ausführliche Beschreibung desselben für überflüssig, besonders wegen der reichen diesbezüglichen Literatur. Für mich wenigstens genügt der Hinweis, daß Wilson allen chromatischen Körpern des Eidotters keinen gleichen Wert zuschreibt, indem er sich folgendermaßen ausdrückt: „In the present state of the subjet it is quite impossible to reconcile the discordant accounts, that have been given regarding the structure, origin and fate of the Jolk-Nuclei and from the facts thus far determined we can only conclude that the various forms of Jolk-Nuclei have little more in common than the name."

Literatur.

Benda, C., Neuere Mitteilungen über die Histogenese der Säugetierspermatozoen. Verh. physiol. Ges. zu Berlin. 1896—1897.

Ders., Über die Spermatogenese der Vertebraten und höheren Evertebraten. Ibidem. Berlin. 1897—1898.

Ders., Die Mitochondrialfärbung und andere Methoden zur Untersuchung der Zellsubstanzen. Verh. Anat. Ges. Bonn. 1901.

Ders., Zur vergleichenden Spermatogenese der Amnioten. Verh. Anat. Ges. Bonn. 1905.

Ders., Die Spermatogenese der Monotremen. Deutsche med. naturf. Ges. Jena. 1906.

Ders., Die Spermatogenese der Marsupialier. Ibidem. 1906.

Bluntschli, H., Beobachtungen am Ovarialei der Monascidie Cynthia microcosmus. Morphol. Jahrb. 1904.

Bouin, P., Ergastoplasma, Pseudochromosomes et Mitochondria. A propos des formations ergastoplasmiques des cellules séminales chez Scolopendra cingulata. Arch. Zool. expérimentale et générale. 1905.

Bouin, M. T., Sur la présence de formations ergastoplasmiques dans l'Ovocyte d'Asterina gibbosa. Bibliograph. Anat. 1898.

Crampton, H. E., Studies upon the early History of the Ascidian Egg. Journal of Morph. 1899.

Ders., The Origine of the Yolk in the Egg of Molgula. Science U. S. 1900.

Ebner, von V., Über Eiweißkrystalle in den Eiern des Rehes. Sitzung der K. K. Akad. Wissenschaft. Wien 1901.

Goldschmidt, R., Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. Zool. Jahrbuch, Abteilung für Anat. und Ontogen. 1902.

Hertwig, Richard, Die Protozoen und Zelltheorie. Arch. f. Protistenkunde. Gustav Fischer, Jena. 1902.

Lams, H., Le corps vitellin de Balbiani et la masse vitellogène dans l'ovocyte de Rana temporaria. Verh. Anat. Ges. Gustav Fischer, Jena. 1906.

Limon, M., Crystalloïdes dans l'oeuf de Lepus cuniculus. Bibliograph. Anat. 1903.
Mertens, H., Recherches sur la signification du corps vitellin de Balbiani dans l'ovule des mammifères et des oiseaux. Arch. Biol. Paris. 1895.
Meves, F., Über den von v. La Valette, St. George, entdeckten Nebenkern (Mitochondrialkörper) der Samenzellen. Arch. mikroskop. Anat. 1900.
Ders., Über Mitochondrien bezw. Chondriokonten in den Zellen junger Embryonen. Anh. Bd. XXXI. 1907.
Ders., Die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen. Cytologische Studien am Hühnerembryo. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXII. 1908.
Popoff, M., Eibildung bei Paludina vivipara. Chromidien bei Helix und Paludina. Archiv mikroskop. Anat. 1907.
Prenant, A., Notes cytologiques: I. Crystalloïdes dans la glandule thymique du chamaleon. III. Crystalloïdes intranucléaires des cellules nerveuses sympathiques chez les Mammifères. Arch. Anat. microscop. 1897.
Reinke, F., Beiträge zur Histologie des Menschen. Kap. „Über Krystalloidbildungen in den interstitiellen Zellen des menschlichen Hodens. Arch. mikroskop. Anat. 1895.
Russo, Achille, Differenti stati dei corpi cromatici dell' ovoplasma dei mammiferi e loro riproduzione sperimentale. Bollett. Acad. Gioenia Sc. nat. Catania. 1906.
Ders., Sull' origine dei mitocondri e sulla formazione del deutoplasma nell'ovocite di ulcuni mammiferi. Rendiconto R. Acad. Lincei. Roma. 1907.
Ders., Sulla origine e sulla funzione dell'apparato mitocondriale nelle cellule sessuali dei mammiferi. Boll. Acc. Gioenia di Sc. nat. Catania. 1908.
Van Bambeke, C., Contribution à l'histoire de la constitution de l'oeuf. Arch. Biol. Paris. 1893.
Van der Stricht, O., Contribution à l'étude du noyau vitellin de Balbiani dans l'ovocyte de la femme. Verhandl. Anat. Ges. G. Fischer, Jena. 1898.
Ders., Les „Pseudochromosomes" dans l'ovocyte des chauve-souris. Compt. rend. Assoc. des Anatomists. Montpellier. 1902.
Ders., La couche vitellogène et les mitochondries dans l'oeuf des mammifères. Verh. Anat. Ges. Gustav Fischer, Jena. 1904.
Ders., La Structure de l'oeuf des mammifères. Ie Part. Arch. Biol. Paris. 1904.
Ders., La structure de l'oeuf des mammifères. IIe Part. Bull. de l'Acad. Royale Méd. de Belgique. Bruxelles. 1905.
Ders., La structure de l'oeuf des chauve-souris. Verh. Anat. Ges. Gustav Fischer, Jena. 1905.
Wilson, E., The Cell in Developpement and Inheritance. New-York. 1902.

Mikrochemische Analyse der deutoplasmatischen Stoffe, die in den vorhin behandelten Gebilden enthalten sind.

Hinsichtlich der chemischen Natur derjenigen Stoffe, welche in myelinischer Form in den oben erforschten Bildungen vorgefunden wurden, so kann die Untersuchung derselben größtenteils nur auf indirektem Wege vorgenommen werden, da bis jetzt keine mikro-

chemischen Mittel und Methoden gestatten, die Zusammensetzung dieser Stoffe nachweisen zu können. Man besitzt jedoch direkte mikrotechnische Methoden, um den Phosphor in der Zelle zu ermitteln, selbst wenn er in organischer Verbindung, wie in den Proteinkernen und im Lecithin oder in einem der Komponenten dieser Substanz, nämlich in der Glyzerinphosphorsäure vorhanden ist. Von allen bis jetzt für den Nachweis des Phosphors angewendeten Methoden wurde in ausgedehnter Weise von den Forschern diejenige von Lilienfeld und Monti, welche später von Pollacci modifiziert worden ist und die man die Zinnmolybdatreaktion nennen könnte, angewendet. An diese Methode habe ich mich vor allem gehalten, weil die Ergebnisse nicht nur die chemische Natur der eingespritzten phosphorhaltigen, in den Kanincheneierstöcken sich wieder findenden Substanzen bestätigt haben, sondern auch mit denen von Maccallum erdachten Reaction Phenylhydrazin 2 % (Chlormolybdat) und mit den mikrochemischen Elektivfärbungen durch Heidenhains Eisenhämatoxylin des Phosphors am meisten übereinstimmen.

Wie bekannt, wurden viele Einwände gegen die Anwendungsmethode des Molybdänreagens erhoben, welches, wie behauptet wurde, nicht imstande wäre, das Phosphormolekül der Proteidsubstanzen oder der Lecithine im allgemeinen chemisch zu spalten und so den Phosphor frei zu machen, um das Phosphormolybdat zu bilden. Auf derartige Einwände, die von Raciborsky ausgingen und denen später auch Arcangeli folgte, wurde schon von Pollacci selbst geantwortet und dessen Ergebnisse hierauf ebenfalls von Bertolo und Comes bestätigt. Indem ich auf die soeben erwähnten Veröffentlichungen verweise, kann ich meinerseits bestätigen, daß die Zuverlässigkeit des Zinnmolybdats für den mikrochemischen Nachweis des Phosphors in den Tiergeweben und im vorliegenden Falle für die in den Eierstöcken der Säugetiere vorhandenen Myelinsubstanzen hauptsächlich von indirekten Proben, welche von ungeheuerer Tragweite sind, bestätigt wird.

Wer in den vorhergehenden Kapiteln die Kaninchenüberernährungsversuche kennen gelernt hat, die man bei wiederholter Einspritzung von Lecithin erhielt, wird bemerkt haben, daß die chroma-

tischen Körper im Ovoplasma sich entweder vermehren oder ex novo bilden, und zwar dort, wo die chromatischen Körper ursprünglich fehlten. Man wird ebenfalls bemerkt haben, daß sich derartige körnige Körper in der Zona pellucida, in den Zellen der Corona radiata, in den Retinaculis der Granulose und in der Follikularflüssigkeit vermehren.

Ohne Zweifel verdanken derartige Bildungen ihre Entstehung dem Lecithin, das in den Organismus eingeführt und das entweder direkt von den Eierstöcken vermittels des Keimepithels oder indirekt vermittels der zirkulierenden Flüssigkeiten absorbiert wird. Die myelinische Form selbst der Substanzen, welche in den soeben erwähnten Eibildungen erscheinen, läßt ebenfalls annehmen, daß dieselben von dem eingespritzten Lecithin herrühren, welches, wie bekannt, jene charakteristische Form annimmt. Andererseits ist das Lecithin eine phosphorhaltige Substanz, denn es enthält ein Molekül Glyzerinphosphorsäure. Wenn sich nun die der Untersuchung unterzogenen Körper mit dem Zinnmolybdat sich blau und mit Eisenhämatoxylin schwarz färben, so muß man annehmen, daß eine solche Färbung der Anwesenheit des Phosphors zu verdanken ist.

Auf Grund dieser Ergebnisse ist auch beiläufig zu bemerken, daß die genannte Färbung sich ausschließlich nur dann bildet, wenn die zu untersuchenden Stoffe wirklich vorhanden sind, da in denselben Eierstockschnitten neben einigen ovulären Bildungen, deren Dotter, Zona pellucida und Granulose reich an sich stark färbenden Stoffen sind, andere vorkommen, die dieselben Teile (Stellen) ungefärbt besitzen.

Damit wird der Einwurf ausgeschlossen, daß die angenommene Färbung einer stärkeren Elektivität der Teile, die angewendeten Reaktionsmittel zu fixieren, zu verdanken ist, denn wäre dem wirklich so, so müßten alle Zonae pellucidae, alle Eier und alle Granulosen samt dem Liquor folliculli sich alle gleichmäßig färben. Der Unterschied der Färbbarkeit ist denn auch wirklich von dem verschiedenen Stoffwechsel der ovarialen Bildungen abhängig, vermittels dessen einige reichlich deutoplasmatische Stoffe verarbeiten, während andere dies gar nicht tun. Fügt man diesem Umstande noch hinzu, wie

auch schon oben angedeutet worden, daß die Lecithineinspritzungen bei Aktivierung des Stoffwechsels, das Ei mit denselben Materialien bereichern, so hat man die schlagendste, wenn auch indirekte Probe dafür, daß es sich hier um phosphorhaltige Stoffe handelt, welche im Lecithin enthalten sind.

Bei der Vermutung, daß der Phosphor einen Teil der Proteingruppe ausmachen könnte, habe ich die mikroskopischen Schnitte mit den gewöhnlich angewendeten Reaktionsmitteln behandelt, die zum Nachweis der Proteine dienen. Ich bediente mich demnach des Millonschen Reagens, der Biuretreaktion und der Jodtinktur, aber in keinem Falle haben die Myelinsubstanzen die Reaktion der Albumine gegeben, während der übrige Teil des Gewebes sich ziegelrot, violett, usw., je nach dem angewendeten Reaktionsmittel färbte.

Daraus habe ich bei Anwendung verschiedener, mit Vorliebe vom Kern aufgenommenen Farbstoffe gefolgert, daß die zu untersuchenden Stoffe anderer Natur als diejenigen von nuklearer Beschaffenheit sind. Mit der Biondi-Heidenhainschen Mischung, nach vorhergehender alkoholischer Sublimatfixierung, färbten sich die Kerne der Granulose und das nukleinische Netz des Keimbläschens grün, während die Zona pellucida, die ovoplasmatischen Einschlüsse und die globuliformen Körperchen der Follikelflüssigkeit nach Anwendung des Säurefuchsins eine stark rote Färbung annahmen. Färbt man dagegen nach Flemmings Methode mit Safranin, so nehmen die Kerne eine rosenrote Farbe an, die ovoplasmatischen Einschlüsse bleiben beinahe ungefärbt (wenn die Immersion der Präparate in der Safraninlösung von kurzer Dauer ist) und deutlich wegen ihres Brillantreflexes begrenzt, besonders wenn die mikroskopischen Schnitte nach ihrer Abwaschung in absoluten Alkohol untersucht werden.

Der Fall ausgeschlossen, daß die fraglichen Stoffe Nucleo-Proteide oder Verbindungen eines Proteins mit Nucleinsäure sind und Phosphor enthalten, so ist es höchst wahrscheinlich, daß dieselben den Lecithinen oder dem Phosphorkern dieser Substanz und zwar wegen der oben angeführten experimentellen Proben angehören. Man könnte am Ende noch daran denken, daß die zu untersuchenden Körper aus Lecithalbumin bestehen, einer heute von vielen angenommenen

und von Liebermann schon hergestellten Substanz. Jedoch fielen die von diesem Proteide gelieferten Reaktionen, wie auch seine leichte Färbbarkeit mit Safranin negativ aus.

In Betreff der Natur der Kristalloide, meint v. Ebner, der dieselben in den Eierstöcken von Dammhirschen untersucht hat, daß sie sich stark mit Eosin rot färben, während sie mit Hämatoxylin ungefärbt bleiben und in Alkohol und Äther, nach vorhergehender Behandlung mit Formol, unlöslich sind. Von Ebner vermutet, daß die erwähnten Kristalle chemisch aus einem Albumin und vielleicht aus einem Globulin zusammengesetzt sind. Diese Anschauungsweise wurde auch von anderen Forschern geteilt, welche dieselben Kristalloide in den Eiern von Wirbellosen antrafen. Gegen diese Auffassung glaube ich ausschließen zu können, daß die Kristalloide echte bzw. gediegene Proteine vom Albumin- bzw. Globulintypus sind, und das auf Grund der Tatsache, daß sie selber ebenfalls Phosphor enthalten, wie es sich aus dem vorher auseinandergesetzten mikrotechnischen Verfahren ergibt. Indem sich letztere mit den für die Albumine spezifischen Reaktionsmitteln nicht färben, nehmen sie mit dem Zinnmolybdat blaue oder violette Farbe an, wiewohl in geringerem Grade als die ovoplasmatischen Einschlüsse mit Eisenhämatoxylin tun. Dieselben könnten etwa den Nucleo-Albuminen wegen des verschiedenen Verhaltens dem Eisenhämatoxylin gegenüber angehören, aber sie könnten ebensogut auch Lecithine sein, welche, bekanntlich kristallisationsfähig sind. Wiewohl ich in den Überernährungsfällen mittels Lecithineinspritzungen nur höchst selten im Ovoplasma dünne, nadelförmige, rundliche Chromoidkörper nicht gesehen habe, denn im allgemeinen sind dieselben globuliförmig, so halte ich es doch für wahrscheinlich, daß die Kristalloide zu einer derartigen Gruppe von Substanzen gehören. In der Tat, wenn sie nach Flemmings Methode mit Safranin gefärbt werden, verhalten sich die Kristalloide wie die anderen ovoplasmatischen Einschlüsse von myelinischer Form, deren wir ja schon oben erwähnt haben. Die gleiche Färbung erhält man auch mit der Biondi-Heidenhainschen Mischung. Andererseits muß man ebenfalls noch in Erwägung ziehen, daß sie nicht der höchst komplizierten Gruppe der Proteine angehören, nämlich den

Proteiden und recht eigentlich den Nucleo-Proteiden, denn sie verhalten sich vom Kernnetz verschieden, wenn man sie, wie auch schon oben gesagt, mit derselben Biondischen Mischung und mit Safranin färbt. Wir nehmen schließlich nicht an, daß bei den Kaninchen die acidophilen, myelinischen Körper und die Kristallloide Fettverbindungen sind, denn sie färben sich nicht schwarz mit Osmiumsäure und auch nicht gelbrötlich mit Sudan III.

Literatur.

Arcangeli, A., Sulla ricerca microchimica del fosforo nei preparati microscopici dei tessuti vegetali e animali. Gazzetta chimica Italiana, Anno XXXVIII. Roma. 1906.

Bensley, R. R., An Examination of the Methods for the microchemical Detection of Phosphorus compounds other than Phosphates in the Tissues of Animals and Plants. Biol. Bul. Wood. Hool. Vol. X. 1906.

Bertolo, P., Ricerca microchimica e localizzazione del fosforo nelle ovaie degli Echinidi etc. Atti Accad. Gioenia Sc. Nat. Catania. 1903.

Ders., Ricerche chimiche sopra le uova del Riccio di Mare (Strongylocentrotus lividus). Bollettino Accad. Gioenia Sc. Nat. Catania. 1904.

Comes, S., Sull' attendibilità del metodo Pollacci per le ricerca microchimica del fosforo nei tessuti animali. Bollettino Accad. Gioenia. Sc. Nat. Catania. 1906.

Ders., Ancora del metodo di G. Pollacci e delle obbiezioni mosse dal Dr. Alceste Arcangeli a questo metodo come reattivo microchimico del fosforo nei tessuti animali. Monitore zool. italiano. 1906.

Heine, L., Über die Molybdänsäure als mikroskopisches Reagens. Zeitschrift physiol. Chemie, Bd. XXII. Straßburg. 1896.

Liebermann, L., Neuere Untersuchungen über das Lecithinalbumin. Pflügers Archiv, Bd. LIV. Bonn. 1893.

Lilienfeld, L. e Monti, A., Sulla localizzazione microchimica del fosforo nei tessuti. Atti Accad. Lincei, Vol. I. Roma. 1892.

Ders., Über die mikrochemische Lokalisation des Phosphors. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XVI. Straßburg. 1893.

Maccallum, A. B., On the Detection and Localization of Phosphorus in animal and vegetable Tissues. Proceedings Roy. Soc., Vol. LXIII. London. 1898.

Pollacci, G., Sulla distribuzione del fosforo nei tessuti vegetali. Malpighia. Vol. VII. 1894.

Ders., Sulla ricerca microchimica del fosforo per mezzo del reattivo molibdico e cloruro stannoso nelle cellule tanniche. Malpighia. Vol. IX. 1895.

Ders., Intorno ai metodi di ricerca microchimica del fosforo nei tessuti vegetali. Atti Reg. Istituto Botanico di Pavia. 1898.

Ders., Intorno al miglior metodo di ricerca microchimica nei tessuti vegetali. Ibidem 1904.

Raciborski, M., Review of Lilienfeld and Montis Article. Botanische Zeitung. Jahrgang LI. 1893.

III.

Experimenteller Teil.

Statistik der männlich und weiblich geborenen Jungen bei den normalen Kaninchen. Statistik anderer Forscher.

Die Züchter behaupten, daß das Verhältnis zwischen den beiden Geschlechtern beinahe immer das gleiche ist. Dr. Licciardelli meint hingegen in seinem „Handbuch der praktischen Kaninchenzucht" (Hoeplische Ausgabe in Mailand), daß die Männchen vorherrschen. Auf Seite 171 seines Werkes drückt er sich folgendermaßen aus: „Bei einem Nest voll geworfener Jungen hat man meistenteils im Durchschnitt eine gleiche Anzahl von Männchen und Weibchen oder gar mehr Männchen, indessen schadet das nichts zum Zwecke des Marktverkaufes". Dr. Licciardelli, der mehrere Jahre hindurch eine rationelle Anstalt für Kaninchenzucht in Catania gehalten hat, bestätigte mündlich die oben erwähnten Ergebnisse auf Grund seiner langen diesbezüglichen Erfahrung, versicherte mich dabei beiläufig auch, daß in einigen Jahren, z. B. 1905, die Zahl der Männchen bei einem Wurf so groß war, daß sie die künftige Existenz der Kaninchenzucht kompromittierte. Die mir von Dr. Licciardelli verschafften Ergebnisse waren aber, trotz der großen Erfahrung dieses Züchters, für eine genaue Statistik nicht genügend, weswegen ich es noch für notwendig hielt, dieselbe auf direktem Wege auszuführen.

Um eine möglichst genaue Statistik zu haben, hätte man auch eine möglichst große Anzahl von Kaninchen aufziehen und in jedem Individuum desselben das Perzent der beiden Geschlechter bei den aufeinanderfolgenden Geburten, von der ersten derselben anfangend, ermitteln sollen. Es wäre ferner nötig, die Zeit zu ermitteln, die von der Geburt bis zur neuen Begattung verläuft — nach Licciardelli mindestens 10—15 Tage. Dieses war mir zwar nicht immer möglich. Jedoch habe ich immer verhindert, daß die Versuchstiere bald nach ihrer Entbindung begattet wären, und dafür gesorgt, daß zwischen der einen Geburt und der folgenden mindestens 20—30 Tage verliefen. Dieser Umstand ist insofern wichtig, als die frühzeitigen Be-

gattungen nicht nur das Verhältnis beider Geschlechter, sondern auch die Sterblichkeit der Produkte beeinflussen. Ich glaube indessen der Wirklichkeit mich dadurch genähert zu haben, indem ich möglichst große Ziffern zu erhalten suchte, welche die Unregelmäßigkeit der Methode kompensieren sollten. Allerdings wäre eine unter den angegebenen Normen ausgeführte Statistik für eine relativ genaue Exaktheit von großem Nutzen bei derartigen Studien. Es wäre daher wünschenswert, daß strebsame Kaninchenzüchter, welche den hohen Wert dieser Untersuchungen zu schätzen wissen, sich dieser Sache annehmen würden. Dabei bin ich aber mir wohl bewußt, daß stets kleine Unterschiede vorhanden sein werden und zwar wegen des Unterschiedes der Örtlichkeit, sowie auch wegen individueller Bedingungen der zu untersuchenden Individuen und wegen der zwischen zwei sich folgenden Geburten verlaufenden Zeitperiode. Aus diesem Grunde glaube ich, daß die von mir in der Abhandlung, die ich im Jahre 1907 in den „Atti della R. Accademia dei Lincei" in Rom veröffentlichte, die sorgfältig zusammengestellten Ziffern leichte Modifikationen ergeben haben, insofern ich auf Grund anderer später zusammengestellter Ziffern die Tatsache bestätigen mußte, daß die prozentige Zahl der ♂ zwischen 52 und 58 Proz. schwankt.

Neulich hat Herr Dr. Basile meine in den Acta der „Accademia dei Lincei" veröffentlichten Versuche wiederholt und das Verhältnis zwischen ♂ und ♀ Würflingen bei normalen Kaninchen bestimmt. In der Zeitperiode eines Jahres erhielt dieser Experimentator aus 9 Weibchen in 60 Geburten 440 Geborene, von denen 225 ♂ und 215 ♀, d. h. 51,14 Proz. ♂ Individuen.

Um in kurzer Zeit viele Würfe zu erhalten, hat aber Basile die Würflinge nach ihrem Erscheinen getötet und die Mütter nach ihrer Entbindung begatten lassen. Dieser Umstand läßt die Statistik Basiles künstlich und das Verhältnis von 51,4 Proz. ♂ Individuen als nicht zutreffend erscheinen. In der Tat hat dieser Experimentator beobachtet, daß während der Trächtigkeit mehrere Embryonen starben und daß dieselben männlichen Geschlechtes waren. Dieser Umstand läßt die Deutung zu, daß die von Basile beobachtete Sterblichkeit

zahlreicher Embryonen nur von der frühzeitigen Begattung abhängig ist und daß die Statistik nicht als maßgebend gilt.

Zur Bestätigung dieser Annahme führe ich noch den Umstand an, daß der Eierstock bald nach der Trächtigkeit neben vielen, an deutolecitischen Materialien armen Eiern andere enthält, die in ihrer Entwicklung weit vorgeschritten sind. Derartige Eier erfahren, wenn auch befruchtet, keine normale Entwicklung und bilden in jedem Fall ♂ Individuen.

Die Tabelle Nr. 1 Basiles bestätigt diese Behauptung. In der Tat je kürzer die Stille zwischen je zwei sich folgenden Geburten, desto größer die Anzahl der geborenen ♀, während in der Gebärmutter tote Embryonen verbleiben.

Hier folgen einige Ergebnisse Basiles.

1. Vom 24. Februar bis zum 25. März 1908 erhielt ein Weibchen 2 Geburten mit 18 Jungen, von denen 6 ♂ und 12 ♀. — Bedenkt man nun dabei, daß die Trächtigkeit bei den Kaninchen 30 Tage dauert, so mußte die Begattung dieses Weibchens sofort nach der Entbindung erfolgen.

2. Vom 6. Juni bis zum 5. September 1907, d. h. in 3 Monaten, erhielt ein Weibchen 4 Geburten mit 28 Jungen, von denen 8 ♂ und 20 ♀.

3. Vom 9. Juli 1907 bis zum 16. April 1908, d. h. in 9 Monaten, erhielt ein Weibchen 9 Geburten mit 42 Jungen, von denen 16 ♂ und 26 ♀.

Im umgekehrten Verhältnis wird die Zahl der ♀ kleiner und die der ♂ größer, sobald die Ruhe zwischen je zwei sich folgenden Geburten länger wird. In der Tat gibt Basile an:

1. Vom 11. Juni 1907 bis zum 12. April 1908, d. h. in 10 Monaten, erhielt ein Weibchen 6 Geburten mit 58 Jungen, von denen 27 ♂ und 31 ♀.

2. Vom 23. Juli 1907 bis zum 13. April 1908, d. h. in 9 Monaten, erhielt ein Weibchen 5 Geburten mit 17 ♂ und 17 ♀.

3. Vom 1. September 1907 bis zum 16. April 1908, d. h. in 8 Monaten, erhielt ein Weibchen 5 Geburten mit 23 ♂ und 13 ♀.

Basile hat in diesen Fällen festgestellt, daß die Geburten mit wenigen (von 5 ab) Jungen besonders reich an ♀, während die Geburten mit vielen (mehr als 10) Jungen besonders reich an ♂ waren.

Dieser Umstand samt der Sterblichkeit der Embryonen in der Gebärmutter läßt die Deutung zu, daß bei den Geburten mit wenigen Jungen eine gewisse Anzahl ♂ ist infolge der frühzeitigen Begattung fehlgeschlagen. Aus den mir von Dr. Basile freundlichst gemachten Mitteilungen geht in der Tat hervor, daß ein am 30. März entbundenes und sofort begattetes Kaninchen erhielt am 30. April, d. h. einen Monat später, 5 Junge, von denen 1 ♂ und 4 ♀. Herr Dr. Basile bemerkte aber dabei, daß sich auf dem Lager ein sehr kleiner Embryo und ein Neugeborener vorfanden, von denen nicht möglich war, das Geschlecht zu bestimmen. Wahrscheinlich waren beides männlichen Geschlechtes.

Auch Herr Dr. Hurst teilte mir durch die gütige Vermittlung von Prof. Bateson einige Ergebnisse freundlichst mit: Unter 400 neugeborenen Kaninchen waren nämlich 202 ♂ und 198 ♀. Auf Grund dieses Verhaltens zieht Dr. Hurst den Schluß, daß bei den Kaninchen die Gleichheit zwischen den beiden Geschlechtern die Regel bildet. Ich beanstande diese Angaben nicht, obwohl Herr Dr. Hurst mir nicht mitgeteilt hat, in welcher Weise die Elemente seiner Statistik gesammelt und zusammengestellt worden sind, ein Umstand, der mir nicht gestattet, Vergleiche anzustellen, wie ich es mit den Ergebnissen Basiles oben getan habe.

Ich glaube indessen, daß eine auf größere Zahlen fußende Statistik, die Anzahl der ♂ etwas erhöhen würde, wie ich übrigens auch der Meinung bin, daß örtliche Umstände ihren Einfluß ausüben können. Jedenfalls, da die Gleichheit der beiden Geschlechter, bei Kaninchen wenigstens, die Regel bildet, so hat dieser Umstand keinen Einfluß auf die Versuchsergebnisse.

Die Bestätigung einer solchen Wahrheit bildet einen der Hauptmomente in der gegenwärtig vorliegenden Untersuchung. In der Tat sind die Jungen männlichen Geschlechts normalerweise in überwiegender oder in gleicher Anzahl vorhanden. Wenn man daher ein derartiges Verhältnis mit Kunstmitteln erhöhen kann, dann sind die

angewendeten Mittel diejenigen, welche die Umkehr des Proportionsverhältnisses zwischen den beiden Geschlechtern bestimmen. Ich mache jedoch darauf aufmerksam, daß manchmal in den einzelnen Geburten die Männchen in der Minderheit sich befinden und daß sie manchmal auch alle weiblichen Geschlechts sein können. Dieser Umstand beweist deutlich, obwohl er in der Geburtenstatistik jedes einzelnen Individuums die soeben erwähnten Proportionsverhältnisse nicht ändert, daß bisweilen der Stoffwechsel der Eier Gelegenheit zu einer größeren Zahl von Männchen oder Weibchen geben kann.

Einige Forscher (wie Rauber) behaupten, daß die größere Produktivität der Männchen (Hyperandrie), wie man eine solche öfters bei vielen Tieren (Insekten, Vögeln, Mäusen, Pferden, Hunden, Menschen, Ziegen) beobachtet, so zu deuten ist, daß die Männchen eine Art Reserve darstellen, um die Totgeborenen oder die in früher Jugend Gestorbenen zu ersetzen, und die größtenteils männlichen Geschlechtes sind. Bei Kaninchen wie bei anderen Arten und im Menschen selbst, welche in ihrem erwachsenen und freiem Zustande wegen der größeren Gefahren im Kampfe ums Dasein sterben, wie dies auch Rauber vorgehalten hat, sind die Totgeborenen oder im Säuglingsalter Gestorbenen auch meistenteils männlichen Geschlechts.

Einige Forscher meinen, daß die vorherrschenden Geburten von Männchen für die Erhaltung der Art eine Reserve darstellen, um die Begattung zu sichern. Es scheint aber die Ansicht mehr begründet zu sein, daß die Totgeborenen nur deshalb männlich sind, weil das Ei infolge der in einer späteren Phase seiner Entwicklung stattfindenden Befruchtung sehr arm an Reservenmaterial ist.

Aus den bisher geführten und veröffentlichten Statistiken über verschiedene Tierarten, die uns Cuénot, Lenhossek, Heape und andere mitteilten, zu schließen, scheint es, daß das Proportionsverhältnis der zwei Geschlechter ein Artmerkmal ist. Man hat in der Tat gemerkt, daß ein derartiges beständiges Proportionsverhältnis durch Umstände eigener Art, wie des Ortes und der Erzeugnisse, welche der Boden liefert, je nach den verschiedenen Jahrgängen, umgeändert werden kann. Aus diesem Grunde kann man nicht umhin bemerken, daß das von Düsing angenommene Vermögen der

Autoregulation, nach welchem jede Art die Eigenschaft besitzt, das Proportionsverhältnis zwischen den beiden Geschlechtern zu erhalten, nichts anderes ist, als eine rein persönliche Auffassungsweise. Ein derartiges Proportionsverhältnis hängt aller Wahrscheinlichkeit nach, von der Beständigkeit der Umgebung, in welcher jede Art zu leben gezwungen ist, ab.

Die von Rich. Hertwig ausgesprochene Ansicht, daß die Differenzierung des Geschlechts auf einer verschiedenen Zellregulation beruht, entspricht sicherlich besser der Grundidee des Problems. Eine derartige Regulation hängt aber stets von einem verschiedenen Metabolismus der Eigebilde, der, wie schon betont, von dem verschiedenen Entwicklungszustand des Eies zur Zeit der Befruchtung abhängig sein kann.

Verzeichnis der geborenen Männchen und Weibchen bei lecithinierten Kaninchen.

Dies zeigt bei Anwendung des von mir vorgeschlagenen Behandlungsverfahrens, daß die Zahl der ♀ höher als die der ♂ ist, und zwar im Gegensatz zu dem normalen Verhalten. Ein derartiger Unterschied ist bald von wenig Belang, bald dagegen höchst belangreich, ein Beweis, daß das Lecithinverfahren, welchem die Kaninchen unterzogen werden, nicht immer vermag, sämtliche Eier zu beeinflussen, daß er aber als Ursache der Umkehr des Proportionsverhältnisses zwischen beiden Geschlechtern gilt. Diese Umkehr ist sehr evident, wenn man die Würfe einer gleichen Anzahl lecithinierter und nicht lecithinierter, durch dieselben Männchen begatteter Weibchen vergleicht. In den sukzessiven Würfen der lecithinierten Weibchen bleibt das Verhältnis zwischen beiden Geschlechtern nicht so konstant wie beim ersten Wurf, was verschiedenen Umständen zuzuschreiben ist, die sich nicht genau durchprüfen lassen.

In meiner Beweisführung, daß nämlich der organische, durch das Lecithin beförderte Metabolismus das Verhältnis der Geschlechter beeinflußt, indem es dadurch die Anzahl der ♀ erhöht, genügt die Produkte einzelner Würfe zu vergleichen. Dies zeigt folgende Tabelle, in welcher die Produkte 10 normaler und 10 lecithinierter Weibchen berücksichtigt werden.

	Normale Kaninchen				Mit Lecithin eingespritzte und ernährte Kaninchen		
	♂	♀	Datum der Entbindung		♂	♀	Datum der Entbindung
1	4	3	16. Februar 1909	1	4	4	1. März 1909
2	3	2	18. „ „	2	1	4	1. „ „
3	4	1	24. „ „	3	2	5	4. „ „
4	5	4	24. „ „	4	3	5	5. „ „
5	4	3	5. März „	5	3	4	5. „ „
6	5	3	6. „ „	6	2	4	10. „ „
7	3	5	8. „ „	7	3	4	12. „ „
8	3	2	8. „ „	8	2	3	20. „ „
9	3	3	8. „ „	9	3	4	25. „ „
10	2	3	10. „ „	10	3	3	2. April „
	36	29			26	40	

Ähnliche Resultate erhielt ich auch aus älteren Versuchen — cfr. Modificazioni sperimentali dell'elemento epiteliale dell'ovaia dei Mammiferi — in denen die Resultate von mehr als 100 lecithinierten Kaninchen zusammengefaßt sind. In dieser Arbeit habe ich den Umstand nicht hervorgehoben, daß die im ersten Wurf erhaltenen Resultate sich nicht mehr in den sukzessiven Würfen lecithinierter Kaninchen wiederholen. Diesem Umstand sind Basiles negative Resultate zuzuschreiben, die sich auf sämtliche Würfe beziehen und den oben genannten Unterschied nicht berücksichtigen.

Dieser Experimentator berichtet ferner, daß die Weibchen infolge der Einspritzungen Geschwülste bekämen, die abgeschnitten werden müßten, was bei meiner sorgfältigeren Behandlung nie geschehen ist. Dessen ungeachtet erhielt auch Basile aus den ersten Würfen sechs lecithinierter Weibchen eine größere Anzahl ♀ Individuen (vgl. Prospekt II seiner Arbeit). In der Tat beim ersten Wurf des Weibchens Nr. 1 mit 8 Jungen erhielt er 3 ♂ und 5 ♀; beim zweiten 3 ♂ und 4 ♀; beim dritten 1 ♂ und 3 ♀; beim sechsten 2 ♂ und 3 ♀; beim 14. 3 ♂ und 4 ♀.

Da es hier keine geeignete Stelle ist, Basiles Resultate eingehend durchzuprüfen, so will ich nur hervorheben, daß sich dieser Experimentator widerspricht, wenn er behauptet, daß Embryonen bei lecithinierten, wie sonst auch bei normalen Kaninchen, starben und daß sie ♂ Geschlechtes waren. Aus dem Prospekt II geht dagegen hervor, daß die Zahl der ♂ bei den von ihm eingespritzten Tieren

im allgemeinen eine höhere ist und daß auch jene der lebend geborenen ♂ sich erhöht, was nicht zutreffend wäre, wären in der Gebärmutter tote Embryonen geblieben.

Der lobenswerte Gedanke dieses Forschers, in einen so wichtigen Gegenstand Licht zu bringen, ruht auf Experimenten, die nach meinem Verfahren nicht streng ausgeführt wurden und die trotzdem meine Resultate teilweise bestätigen.

Es ist auch hervorzuheben, daß es erfordert, um die Anzahl der ♀ in den sich folgenden Würfen zu erhöhen, daß es zwischen zwei sukzessiven Würfen eine Ruhepause von mindestens zwei Monaten stattfindet. Während dieser Pause ist dieselbe Behandlung wie vor dem ersten Wurf anzuwenden. Es ist auch empfehlenswert, die Kleinen nach etwa 20 Tagen von der Mutter zu entfernen.

Untersuchung einzelner Würflinge hinsichtlich des Geschlechtes und der Farbe der Hybriden.

Das Studium mehrerer isolierter Fälle beabsichtigt einige Ergebnisse besser zu illustrieren:

1. In einer ersten Reihe von Experimenten wollte man versuchsweise prüfen, ob das Mendelsche „Gesetz der Prävalenz“ auch bei Kaninchen sich vollzieht. Eine derartige Prämisse wurde für notwendig erachtet, um zu erfahren, ob in Folge des Behandlungsverfahrens, welchem die Weibchen der neuesten Rasse unterworfen wurden, diese letztere sofort auch bei den Hybryden sich wiedererzeugen würde. Es wurden auch Kreuzungen unter Normalweibchen, wie „Polacca“, „Imalaia“ und „Olandese“, mit Normalmännchen von noch ursprünglicher oder älterer Rasse wie: „Argentata“ und „Nera“ vorgenommen. Die Produkte derselben, entsprechend dem ersten Mendelschen Gesetze, waren immer grau oder schwarz.

2. Dieser von mir vorgeführte Fall beweist, daß man von ♂ verschiedener Farbe auch verschieden gefärbte Junge bekommt, daß ferner lecithinierte Weibchen eine größere Anzahl ♀ geben.

„Polacca“-Kaninchen, jung, gut ernährt, mit Lecithinlösungen eingespritzt und hernach von einem grauen Männchen begattet, warf am

19. Februar 1905, zwei kleine graue Junge, 1 Männchen und 1 Weibchen. Bei diesem Weibchen wurden die Einspritzungen fortgesetzt. Hierauf erfolgte die Begattung mit einem schwarzen Männchen. Am 28. März wurden 8 kleine geworfen: 6 Weibchen und 2 Männchen. In bezug auf ihre Farbe, waren 6 weiß (5 Weibchen und 1 Männchen), 2 schwarz (1 Weibchen und 1 Männchen), wie in Fig. 26.

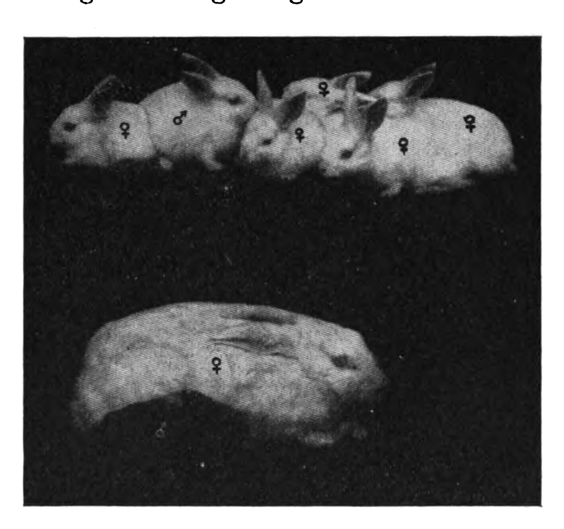


Fig. 26. Kreuzung zwischen Neromännchen und lecithinierte Polaccaweibchen. Die Produkte sind 6 Polacchi (5 Männchen und 1 Weibchen) und 2 Neri (1 Männchen und 1 Weibchen).

3. Andere Fälle, die ich in diesem Paragraphen näher untersuchen werde, beweisen, daß manchmal die Behandlungsweise, der die Weibchen neuester Rasse unterworfen wurden, nicht den erwünschten Erfolg beim ersten Wurf gibt. Dies hängt wahrscheinlich von der Entwicklung der Tiere ab, welche, beim Überschreiten eines gewissen Stadiums, nicht mehr die eingespritzten Stoffe aufnehmen und daher die Folgen nicht mehr verspüren können.

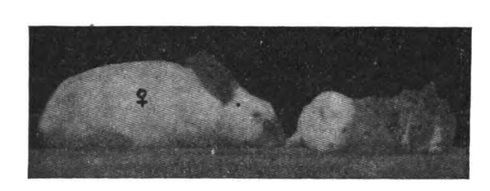


Fig. 27. Kreuzung zwischen Neromännchen und lecithiniertem Imalaiaweibchen. Die Produkte waren 2 Imalaia und 2 von derselben Rasse mit gelblicher Grundfarbe.

Kaninchen „Imalaia", noch junges Tier, wurde nach der Einspritzung mit einem schwarzen Männchen begattet. Am 4. Februar erfolgte die erste Niederkunft (mit 6 schwarzen Neugeborenen 3 Weibchen, 3 Männchen). Bei fortgesetzter gleicher Behandlungsweise, wurde es wieder mit dem gleichen schwarzen Männchen begattet. Zweite Niederkunft am 23. März mit 4 Kleinen, wovon 2 „Imalaia" und 2 von derselben Rasse, aber mit gelblicher bzw. weißer (wie in Fig. 27), Grund-

farbe[1]). Hinsichtlich des Geschlechts war das Ergebnis: 3 Weibchen und 1 Männchen. Bei Fortsetzung derselben Behandlungsweise 20 und noch mehr Tage nach dem Wurf, wurde es hernach mit ebendemselben schwarzen Männchen begattet. Am 13. Mai erfolgte die Niederkunft mit 7 Jungen, wovon 4 mit den echten Merkmalen der Mutter, 2 mit denen der „Imalaia", davon 1 wie im vorhergehenden Wurfe, mit gelblicher Grundfarbe, und 1 mit schwarzer Farbe. In bezug auf das Geschlecht, waren 5 Weibchen und 2 Männchen.

4. In diesem Abschnitt sind Fälle eingetragen, bei denen die Farbe der Hybriden als Begleiterscheinung des Geschlechts der Eltern auftritt.

a) „Olandese"-Weibchen vom Markt bezogen und wahrscheinlich von nicht selektionierter Rasse, weil die Flecken auf dem Kopfe und an den Flanken nicht so charakteristisch wie in Fig. 28 waren. Es wurde eingespritzt und mit einem Männchen von Silberrasse be-





Fig. 28. Weibchen: „Olandese" von nicht selektionierter Rasse des Marktes.

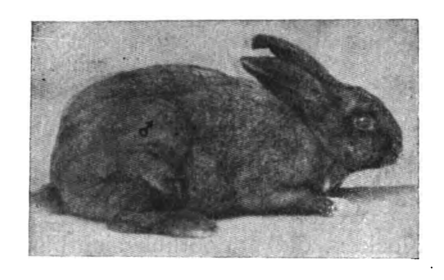


Fig. 29. Männchen von Silberrasse.

gattet (Fig. 29). Es warf am 9. Juli 4 Junge, wovon 3 Weibchen von „Olandese"-Rasse, der Mutter täuschend ähnlich, und ein graues Männchen, wie in Fig. 30. Es ist höchst wichtig zu bemerken, daß das „Olandese"-Weibchen vor der Einspritzung unter Normalbedingungen begattet wurde und zwar mit demselben grauen Männchen einmal. Es erzeugte dann später 5 Junge, die ebenfalls grau waren,

1) Für die von Correns behaupteten intermediären Charaktere der Hybriden und für die physikalisch-chemische Interpretation von Kreuzungen, die bei Pflanzen vorgenommen wurden, wie beispielsweise bei Melandrium album und rubrum, Hyoscyamus niger und pallidus, vgl. Bateson und Correns im betreffenden Literaturverzeichnis.

wovon 2 Weibchen und 3 Männchen. Dasselbe Weibchen wurde unter den gleichen Bedingungen zum zweiten Mal begattet und erzeugte ebenfalls graue Junge, 4 an der Zahl, von denen 1 Weibchen und 3 Männchen. Diese Ergebnisse, verglichen mit der dritten Niederkunft, die auf die Einspritzungen erfolgte und 3 „Olandese"-Weibchen mit einem grauen Männchen gab, beweisen sehr deutlich, daß die Einspritzungsbehandlung bei dem Muttertiere die Ursache der überzähligen Weibchenproduktion und -merkmale ist.

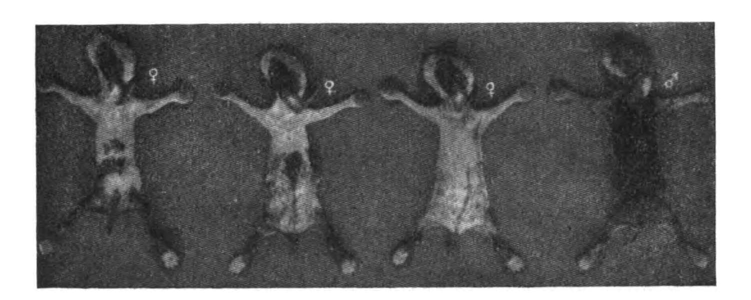


Fig. 30. Produkte der zweitmaligen Kreuzung, nach vorhergehender Einspritzung von Lecithinlösung. Ergebnis: 3 Junge mit mütterlichen Merkmalen sind Weibchen; 1 besitzt väterliche Merkmale.

b) „Imalaia"-Weibchen, eingespritzt und begattet mit „Polacca"-Männchen, gab am 31. Januar 1905 7 Junge, wovon 4 Weibchen von typischer „Imalaia"-Rasse und 3 weiße Männchen mit schwarzen Flecken, die undeutlich sichtbar waren an den Stellen wo sie für gewöhnlich bemerkbar sind (Fig. 31).

5. In diesem Experimente wurden 2 „Imalaia" Weibchen verglichen, die von den vorhergehenden Kaninchen entstammten. Ein ungefähr 10 Monate altes Weibchen, wurde eingespritzt, während das andere als Kontrolltier diente. Beide wurden hernach mit demselben normalen „Nero"-Kaninchen begattet. Das eingespritzte Kaninchen warf am 27. Februar 1906 Junge: 5 „Neri", von denen 3 Weibchen und 2 Männchen waren. Das Normalkaninchen warf am 30. Januar desselben Jahres ebenfalls 5 kleine „Neri", wovon 1 Weibchen und 4 Männchen waren. Im darauffolgenden Jahre, als man bei den nämlichen Individuen, ungefähr 40 Tage lang vor der Begattung, die Lezithineinspritzungen vornahm, erhielt man beständig kleine „Imalaia", wie in Fig. 32.

6. Andere untersuchte Fälle liefern den Beweis, daß nicht immer das Behandlungsverfahren, welchem die Weibchen ausgesetzt werden, gleichfalls auf die Geschlechtsproduktion wirkt, sowie auch auf die rezenten Merkmale. So hat man einige Male bei den Würfen bzw.



Fig. 31. Kreuzung zwischen Polaccomännchen und lecithiniertem Imalaiaweibchen. Alle Jungen sind „Imalaia".

Brutnesten ein Vorherrschen von weiblichen Individuen, aber mit den Merkmalen der älteren Rasse, der Kreuzung. Wieder andere Male hingegen trägt der größere Teil der Produkte die Merkmale der



Fig. 32. Kreuzung zwischen Neromännchen und lecithinierten Imalaiaweibchen. Alle Kleine sind Imalaia mit undeutlich schwarzen Flecken als im Normalen.

rezenten Rasse, oder die mütterlichen Merkmale, ohne daß das Geschlecht jedoch entsprechend ist, weil einige davon Männchen und wieder andere Weibchen sind. Derartige Ergebnisse, verglichen mit denen im Abschnitt 4 auseinandergesetzten, beweisen mithin, daß die

vom Ei angenommenen Modifikationen sowohl bezüglich der Geschlechtsbestimmung, als auch für die Erhaltung der mütterlichen Merkmale unabhängig sind, daß aber mitunter derartige Modifikationen als Begleiterscheinungen auftreten können. Ich nehme an, daß die Ursache einer derartigen Konkomitanz der Modifikationen des Keimes von einer passenden Behandlungsweise abhängt, welche mit dem Alter, mit dem physiologischen Zustande und mit anderweitigen Bedingungen der betreffenden Individuen in Beziehung steht, für die man im gegebenen Falle schwerlich eine richtige Beschreibung geben könnte.

Es ist hier auszuschließen, daß es sich in den Fällen der oben erwähnten lecithinierten Kaninchen, um ein gewöhnliches Vorkommen von remissiven Individuen handeln kann. Wie schon bemerkt, bevor die Kaninchen von recenter Rasse dem vorgeschriebenen Behandlungsverfahren unterzogen, wurden sie im Normalzustande 1—2 mal begattet, und zwar mit demselben Männchen, um den Beweis zu haben, daß die Jungen dem Mendelschen Prävalenzgesetz entsprachen.

Ich will hier besonders hervorheben, daß die besten Resultate aus der Begattung lecithinierter Imalaia-Weibchen mit normalen schwarzen Männchen erhalten wurden.

Methoden zur Darreichung des Lecithins und der Glyzerinphosphorsäure.

Bei den ersten dieser Untersuchungen habe ich das Lecithin mittels Einspritzungen den Versuchstieren beigebracht. Ich habe aus diesem Grunde verschiedene Mittel und Wege eingeschlagen, um seine Lösungen möglichst passend herzustellen. Nicht alle von diesen waren indessen für den jedesmaligen Gebrauch sehr geeignet. Die beispielsweise mit Alkohol oder Chloroform hergestellten Lösungen sind keineswegs praktisch verwendbare Flüssigkeiten, wie z. B. physiologische Lösungen (hier ClNa) oder solche, die man mit Poehlschen Pastillen erhält, weil das Lecithin in Form eines weißen flockigen Niederschlags präzipitiert [1]).

1) Ich habe das Lecithin von E. Merk in Darmstadt bezogen. Um selbiges längere Zeit aufzubewahren, habe ich es in kleine Gläschen gethan, deren jedes 5 g Lecithinsubstanz enthielt. Eine solche Vorsicht ist unbedingt notwendig, weil das Lecithin mit der Zeit sich verändert, indem es bei langsamer Annahme einer braunen Färbung eine saure Reaktion



Da ich mit Ölen nur mittelmäßig verwendbare Lösungen erhielt, welche mit der Zeit zwar unverständlich sich erhalten, so habe ich sie dessen ungeachtet benutzt, wiewohl eine derartige Anwendungsweise auch ihre Nachteile offenbarte. Ich habe also Mandel- bzw. Olivenöl in Gebrauch gezogen, sie erst mit Alkohol gewaschen, dann sterilisierte, und die Lösungen hergestellt, nachdem die Mischungen längere Zeit im Thermostaten bei 45 ° C geblieben waren.

Vaselinöl mischt sich besser als die soeben erwähnten Öle und gibt 20 %ige Lösungen, die sich längere Zeit klar aufbewahren lassen. Ich mußte indessen auch für dieses Öl die unliebsame Beobachtung machen, daß es ebenfalls verschiedene Nachteile zeigt. Vorerst wurde es vor dem jedesmaligen Gebrauch sterilisiert und zwar bei 100 ° C. Um die Mischungen herzustellen, wurden 10—15 ccm Vaselinöl in eine kleine flache Porzellanschale, in welcher bereits 2—3 g Lecithin sich befanden, gegossen und sie in einem Thermostaten bei einer konstanten Temperatur von 35—38 ° C gehalten. Dieses Quantum genügt für 2—3 Tiere, die jedesmal mit frisch hergestellten Mischungen einzuspritzen sind, damit sich letztere nicht zersetzen. Beim Überschreiten der Temperatur von 40 °. C wird das Lecithin zersetzt und z. T. ins Vaselinöl gelöst, wodurch die Verbindungen frei werden. Diese Vorsicht ist eine der Hauptbedingung des Erfolges. Nach 24 Stunden wird die Mischung mittels einer Spatel gerührt und in Ruhe belassen. So hat man eine syrupähnliche goldgelbe Flüssigkeit zur Einspritzung bereit. Nach dem Erkalten behält sich die Flüssigkeit immer hell durchsichtig, immer dicker. Nach längerer Zeit trennt sich aber das Öl vom Lecithin, das am Boden niederschlägt. In diesem Falle muß man, zur Wiederholung der Einspritzungen, es von Neuem im Thermostaten aufwärmen und die Mischung umrühren. Wie schon erwähnt, ist es aber ratsamer, die Mischung frisch herzustellen. Außer diesem Nachteil, wird das Vaselinöl, als träge Masse, von den Geweben nicht aufgesogen und verursacht im Organismus Funktionsstörungen, welche den physiologischen Stoff-

---

zeigt, einen eigenartigen Geruch nach Aminen verbreitet, währenddem es in reinem ursprünglichen Zustande einen hellgelblichen Farbenton, eine wachsartige Konsistenz und einen ätherartigen Geruch zeigt.

wechsel beeinträchtigen. Dieser Übelstand, den ich leider nur zu oft beobachtet habe, hat einen erheblichen Einfluß auf die Begattungsergebnisse.

Wiewohl ich Anfangs eine derartige Anwendungsweise für die Einverleibungsweise des Lecithins in den Organismus vorgezogen habe, so erhielt ich bei dieser Methode Ergebnisse, die mich ermutigten, die diesbezüglichen Untersuchungen fortzusetzen. Ich mußte aber bei der Gelegenheit auch die leidige Erfahrung machen, daß diese Methode, besonders wenn sie in die Hand unerfahrener Experimentatoren fällt, nicht die gewünschten Ergebnisse liefert, die ich selbst erhalten habe. Ich fing deswegen an, andere weniger schädliche, aber zugleich wirksamere Methoden zu ersinnen, die auch praktischer und weniger nachteilig für den allgemeinen Stoffwechsel sind, die aber gleichzeitig denselben Effekt hervorrufen können (vgl. § **D** auf S. 71—72). Zu diesem Behufe befasse ich mich nunmehr mit Experimenten an Kaninchen, denen das Lecithin per os verabreicht wurde. Die physiologische ClNa-Solution (hier ausnahmsweise 0,65) löst ungemein leicht das Lecithin auf, indem dies es zuerst mit dem Spatel in einer Porzellanschale umrührt und hernach in einer Flasche kräftig geschüttelt wird. Nach einigen Tagen der Ruhe, zeigt sich das Lecithin am Boden der Flasche in Form eines äußerst feinen flockigen Niederschlags. Eine solche Lecithinlösung bereitet man in 5 % Lecithinsolution und verdünnt dann bei allenfallsigem Gebrauch mit einer anderen ClNa-Lösung von 0,25 %. Bei Darreichung des Lecithins per os darf die Anzahl der Einspritzungen bedeutend kleiner werden (vgl. § **D** auf S. 71—72). Ich habe auch bei den Experimenten an Kaninchen eine Glyzerinphosphorsäurelösung von 0,50 % per os verabreicht. Eine derartige Lösung ist mit physiologischer Kochsalzlösung leicht herzustellen. Die Lösungen von Glyzerinphosphorsäure und Lecithin für die Darreichung per os wurden in Verbindung mit Kleie, im Verhältnis von 20—25 ccm für je ein Versuchstier gegeben, wie man es im folgenden Kapitel erfahren wird.

Injektionstechnik und Normen hinsichtlich des Behandlungsverfahrens.

Bei einer ersten Reihe von Versuchen wurden Einspritzungen unter die Haut an der inneren Schenkelseite oder an beiden Seiten

des Unterleibes (Flanken) in der Lumbarregion vorgenommen, indem man sich möglichst weit über dem Zitzengewebe hielt. Die betr. Partie wurde zuerst mittels einer lauen 2 pro Mill. Sublimatlösung sorgfältig abgewaschen, und auf derselben die sterile Watte so lange belassen, bis die Spitze der Spritze eingeführt wurde. Hierauf wurde an der Einspritzungsstelle eine fleißige, systematische Massage mit warmer Watte vorgenommen. Die Menge der einzuspritzenden Flüssigkeit muß sich je nach dem Alter und Gewicht des betreffenden Versuchstieres richten. Bei den ersten Versuchen, als ich nur subkutane und endoperitoneale Einspritzungen vornahm, verwandte ich ein großes Quantum von Lecithin, mußte aber sehr bald davon Abstand nehmen, wie ich übrigens hier selbst abrate zu tun. Bei einjährigen und älteren Tieren wird man 2—3 ccm einer konzentrierten Lecithinlösung einspritzen, und nach einer Zwischenzeit von 3—4 Tagen nimmt man noch 6—7 Einspritzungen vor. Nach 6—8 Tagen beginnt man wieder mit einer folgenden und zwar endoperitonealen Einspritzungreihe, welche mit solchen unter die Haut abwechseln soll. Zwischen der einen und der anderen Reihe von Einspritzungen läßt man eine Zwischenzeit von 2—3 Tagen verstreichen. Man spritzt in die Bauchhöhle 1—3 ccm einer konzentrierten Lecithinlösung ein. Bei Einspritzungen unter die Haut genügen 4—5 ccm, also im ganzen 6—8 Einspritzungen. Bei Vornahme der Endoperitonealinjektionen müssen vor allem Vorsichtsmaßregeln ergriffen werden, um etwaige Infektionen zu vermeiden. Zu diesem Zwecke wurden die Haare und das Operationsfeld vorher desinfiziert, indem man beide mit 2 ‰iger warmer Sublimatlösung abwusch. Ebenso wurde die Nadelspitze der Spritze vor ihrem Gebrauch in kochendes Wasser eingetaucht und mit hydrophiler Watte abgetrocknet. Um die Spritzennadel ohne Verletzung in das Unterleibseingeweide einführen zu können, muß man passend mit zwei Fingern die Unterleibswand mitsamt der Muskelhaut aufheben, um einen genügend freien Raum für die Einführung der Spritzenadel zu bilden. Hat man eine hinreichende Übung in dieser Technik erlangt, so ist eine derartige Vorsicht überflüssig. Es genügt dann, die Spritzenadel allein zwischen die Gewebe der Unterleibswand hindurchzuführen, um bis zur Grenze des Bauchfells anzukommen.

Nach vorgenommener Einspritzung ohne Luftzutritt, nimmt man gleich darauf eine passende und genügende Massage vor, indem man wiederholt auf den Unterleib drückt, damit die eingespritzte Flüssigkeit in der ganzen Bauchhöhle sich gleichmäßig verteilt. Die beste Stelle für Peritonealinjektionen ist auch die Lendengegend ziemlich weit oberhalb des Zitzengewebes. Die gelegenste Zeit ist des Abends oder Morgens vor der gewohnten Fütterung. Nach dem soeben auseinandergesetzten Lecithinbehandlungsverfahren, läßt man die Versuchskaninchen 6—10 Tage ausruhen. Hierauf begattet man sie dann mit jungen, brünstigen Männchen, die je nach Belieben lecithinisiert werden können oder nicht. Im ersteren Falle werden die Einspritzungen viel weniger zahlreich sein als die bei den Weibchen vorzunehmenden, und zwar 3—4 unter die Haut. Um das Behandlungsverfahren nach jedem Wurf von Jungen zu wiederholen, müssen 15—20 Tage vergehen. Für die richtige Auswahl der Kaninchenwohnungen und die passendste Aufzucht dieser Tiere, verweise ich auf das früher erwähnte „Handbuch der praktischen Kaninchenkunde“ von Dr. Licciardelli. Die Versuchskaninchen müssen unter allen Umständen an sonnigen nach Osten ausgesetzten Orten gehalten werden. Die zu verabreichende Nahrung muß reichlich abwechselnd ausfallen, beispielsweise Morgens: Grünes Kohlblätterstrunk, Sellerie oder Fenchel, Lattich oder andere Salatsorten: 500 g; Mittags: Kleie 150 g; Abends: Grünes wie des Morgens und in gleicher Ration.

Wie ich bereits in vorhergehenden Kapiteln berichtet habe, können sich viele Nachteile infolge der Einspritzungen von Lecithin zeigen, welches in Vaselinöl gelöst wurde. Aus diesem Grunde habe ich es vorgezogen, das Lecithin per os in den Körper des Versuchskaninchens einzuführen. Zu diesem Behufe wurden mehrere Weibchen mit nur einem Männchen passend zusammen untergebracht. Die Aufzucht derselben hatte bereits seit dem ersten oder zweiten Monat angefangen. Des Morgens gab man die erste Mahlzeit diesen Versuchstieren. Dieselbe bestand aus Kleie vermischt mit einer nach früherer Angabe in physiologischer Kochsalzlösung zubereiteten Lecithinmischung. Jedes Versuchstier erhielt in genügender Kleinration 20—25 ccm der soeben angegebenen und zubereiteten Flüssigkeit.

Der andere Rest der Nahrung wurde im Laufe des Tages mit verschiedener grüner Nahrungskost ergänzt. Dieser Behandlung folgten ferner, wie schon oben gesagt, die subkutanen Einspritzungen.

Einer anderen Gruppe von Versuchskaninchen wurde zugleich mit Kleie vermischt die Glyzerinphosphorsäure verabreicht, welche in dem Quantum von 20—25 ccm besonders gut vertragen wurde.

Winke über die mikroskopische Technik für das Studium des Eierstocks.

Um die Eierstöcke zu fixieren, wurden verschiedene Versuche gemacht, welche den Zweck hatten, die Struktur der verschiedenen Elemente, besonders der Eierstöcke und ihrer Eier so wenig wie möglich zu verändern. In dieser Absicht wurde Bendas Flüssigkeit außer diejenige von Flemming, Müller, v. Lenhossek und Mingazzini angewendet. Alle diese genannten Flüssigkeiten entsprachen indessen nicht einer vollkommen tadellosen Konservierung der zu untersuchenden Objekte, sintemal einige Kontrollpräparate, die mit derartigen Mischungsflüssigkeiten behandelt worden waren und in denen die Menge der Essigsäure sich vermindert hatte, verschiedene Resultate ergaben, welche aus verschiedenen Gründen für bessere gehalten werden müßten. Währenddem man bei Anwendung der erstgenannten Flüssigkeiten vacuoläre Gebilde oder künstlich gebildete Räume, wie z. B. in der Zona pellucida oder im Eidotter selbst gewahrt, die irrtümlicherweise von einigen Forschern als normale Gebilde aufgefaßt wurden, so erwiesen sich die nämlichen Teile, mit den Flüssigkeiten der zweiten Kategorie anders geformt. Auch die Eierstocksgewebe erwiesen sich kompakter wegen der Konservierung von Substanzen, welche die Essigsäure zu lösen pflegt oder sonst anderweitig verändert. Lenhosseks oder Mingazzinis Flüssigkeiten enthalten in der Tat eine nicht unbedeutende Menge von Essigsäure, welche bei ihrer Anwendung, unabhängig von den oben angeführten Beobachtungen, allerdings einige Bedenken erwecken. Die Fixierungsflüssigkeit, welche ich mit Erfolg bei diesen Untersuchungen angewendet habe und bei denen, außer der Topographie der einzelnen Teile, beispielsweise einiger Elemente der Eier (chro-

matische Körper) ebenso wie ihre chemische Normalkonstitution, es nötig war, möglichst unverändert zu erhalten, war eine Mischung aus gleichen Teilen von Sublimat in gesättigter Lösung und Alkohol von 90°. Dieser Mischung wurden je nach ihrer Menge, einige wenige Tropfen Essigsäure hinzugefügt. In dieser Mischung wurden die Eierstöcke in Querschnitten von 3—4 mm Dicke 5—7 Stunden und noch länger belassen und dann in Jodalkohol nach gewöhnlichem Brauch. Bisweilen, wenn auch nur das Sublimat in gesättigter Lösung angewendet wurde, ließ man die soeben erwähnten Querschnitte 15, 24—27 Stunden in dieser Mischung liegen.

Zum Studium der Metachondrialbildungen des Eidotters wurde Bendas Methode gefolgt.

Die betreffenden Färbungen wurden immer auf dem Objektglas vorgenommen, indem man die Schnitte mit destilliertem Wasser anklebte. Folgende waren die Farbflüssigkeiten: Ehrlichs Hämatoxylin und Hämatoxylinlösungen von Kleinenberg und Heidenhain.

Aus den Vergleichspräparaten, welche mit diesen drei Hämatoxylinen hergestellt worden waren und aus Schnitten der nämlichen Eierstöcke und die von Versuchskaninchen unter verschiedenen Bedingungen, mochten diese natürlicher oder experimenteller Art sein, genommen worden waren, ergab es sich, daß Heidenhains Eisenhämatoxylin unverkennbar höhere Vorzüge vor den anderen besitzt. Außerdem, da es wirklich ein energisch wirksames Farbemittel besonders für die Kernsubstanzen darstellt, so erlaubt es, indem es sie zugleich färbt, andere außerhalb des Kernes befindliche Gebilde zu studieren, welche mit den anderen Hämatoxylinen entweder gar nicht oder kaum sichtbar gemacht werden können.

Wenn man sich in diese Methode gut hineingearbeitet hat und mit derselben sich gut vertraut gemacht hat, um zu geeigneter Zeit und im günstigen Momente mit der Differentiation des Eisenalauns aufzuhören, kann man unschwer einige Strukturen entschleiern, wie beispielsweise die acidophilen chromatischen Körper des Ovoplasma, die, wie schon früher erwähnt, eine besondere Wichtigkeit für das Leben des Eierstockes besitzen. Überdies stehen, wie schon oben bemerkt, die Ergebnisse, welche man nach vorhergehender Sublimat-

fixation mit dem Eisenhämatoxylin erhalten hat, auch im Einklang mit den mikrochemischen Reaktionen, um die phosphorhaltigen Substanzen bis in den innersten Teilen der Zellen selbst zu entdecken, so daß es auch als mikrochemische Methode Anwendung finden kann. Die extranuklearen Körper von myelinischer Form, welche sich mit Eisenhämatoxylin färben, da sie ja lange Zeit hindurch im Eisenalaun verbleibend sich durch Entfärbung differenzieren, währenddem die Kernsubstanzen immer gefärbt bleiben, sollen sich von diesen letzteren auch chemisch differenzieren. Daß dem wirklich so sei, kann man aus den dabei gelegentlich erhaltenen Färbungen mit Biondi-Heidenhains Mischung oder nach Flemmings Methode nachweisen. Mit diesen Reaktionsmitteln färben sich nämlich, wie dies auch schon in einem der früheren Kapitel auseinandergesetzt wurde, die nuklearen und extranuklearen Substanzen verschieden. Nach der Färbung mit Eisenhämatoxylin wurde öfters eine Grundfarbe hinzugefügt, wie beispielsweise: Säurefuchsin, Rubin, Eosin oder Ammoniakkarmin, Lichtgrün usw.

Literatur.

Basile, C., Influenza della Lecitina sulla determinazione del sesso e sui caratteri mendeliani. Rendic. R. Acc. dei Lincei. Roma 1908.

Bateson, W., Note on the resolution of compound charakters by Crossbreeding. Proceedings Cambridge Philosoph. Society. Vol. XII. 1902.

Correns, C., Über die dominierenden Merkmale der Bastarde. Berichte d. deutschen botan. Ges. Bd. XXI. 1902.

Ders., Weitere Beiträge zur Kenntnis der dominirenden Merkmale der Mosaikbildung der Bastarde. Ibidem. 1902.

Cuénot, L., Sur la détermination du séxe chez les animaux. Bull. scientifique de la France et de la Belgique. 1900.

Ders., La distribution des séxes dans les pontes des pigeons. Compt. rend. Accad. Sciences. Paris 1900.

Düsing, C., Die Regulierung des Geschlechtsverhältnisses bei der Vermehrung der Menschen, Tiere und Pflanzen. Jenaische Zeitschr. f. Naturw. Jena 1885.

Gini, C., Il sesso dal punto di vista statistico. Remo Sandron-Editore. Milano 1908.

Heape, W., Notes on the proportion of the sexes in boys. Proceeding of the Cambridge Philos. Soc. 1907.

Lenhossek, von, M., Das Problem der geschlechtsbestimmenden Ursachen. Gustav Fischer. Jena 1903.

Rauber, A., Der Überschuß an Knabengeburten und seine biologische Bedeutung. Leipzig 1900.

Druck von Ant. Kämpfe, Jena.






QP251
R8
Russ
BIOLOGY
LIBRARY
G
204399

